GAMMAGLOBULINTHERAPIE
BEi EINER EXPERIMENTELLEN PERITONITIS DER RATTE

RAINER HART

Diss
München

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
im Klinikum Großhadern der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Dr. h.c. W. Brendel

GAMMAGLOBULINTHERAPIE BEI EINER EXPERIMENTELLEN PERITONITIS DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Rainer Hart
aus
Hohenbrunn

München 1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. J. Seifert

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.10.84

Herstellung: Hieronymus Buchreproduktions GmbH, München

Teilaspekte der vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen folgender Vorträge bereits veröffentlicht:

SEIFERT, J., HART, R., BRENDEL, W.

Treatment of Experimental Peritonitis in Rats with Different Gammaglobulins.
16th Congress of the European Society for Surgical Research, Garmisch-Partenkirchen, April 26 - 29, 1981.
Veröffentlicht in:
European Surgical Research, 13, (1981) 89

HART, R., BRENDEL, W., SEIFERT, J.

Können Gammaglobuline die Mortalitätsrate einer experimentellen Peritonitis verbessern?
99. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, München, 14. - 17. April 1982.
Veröffentlicht in:
Chirurgisches Forum ´82 für experimentelle und klinische Forschung, (1982) 185 - 188

SASS, W., HART, R., MIKULLA, G., SEIFERT, J.

Die Wirksamkeit unterschiedlicher Gammaglobulinklassen bei der Therapie einer experimentellen Peritonitis.
Vortrag anläßlich des Niederrheinisch-Westfälischen Chirurgenkongresses 1983.
Veröffentlicht in:
Zentralblatt Chirurgie, Leipzig 108, 13, (1983) 823

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544311_0021

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	3
1. Historischer Überblick	3
2. Struktur und Funktion der Immunglobuline	5
3. Methoden zur Verbesserung der intravenösen Verträglichkeit der Gammaglobulinpräparate	8
Fragestellung	12
Material und Methoden	14
1. Gammaglobulinpräparate	14
2. Versuchsplanung und Versuchsablauf, Materialgewinnung	15
a) Doppelradialdiffusionstest nach OUCHTERLONY	15
b) Radioaktive Markierung der Proteine	18
c) Untersuchungen zur Aufspaltung der Gammaglobuline verschiedener Modifikation innerhalb des Organismus	19
d) Peritonitismodell und Therapie	21
e) Nachweis der entstandenen Peritonitis	24
f) Überlebensrate und Wirkungsindex	24
g) Bestimmung der Organverteilung der Präparate	25
h) Statistik	26
Ergebnisse	29
1. Untersuchung zur Bestimmung von präformierten Ratten-Antikörpern gegen humanes Gammaglobulin und Albumin	29
2. Mikrobiologische Untersuchung von Peritonealabstrichen	29
3. Sterberate und Wirkungsindex unter Therapie mit verschiedenen Gammaglobulinpräparaten	30
4. Lungenfeuchtgewichte	34

Seite

5. Organverteilung der Gammaglobulinpräparate 40

6. Degradierung der Gammaglobuline innerhalb des Organismus 66

Diskussion und Interpretation der Ergebnisse 76

1. Indikationen zur Gammaglobulintherapie 76

2. Gammaglobulintherapie von bakteriellen Infektionen im Tierversuch 77

3. Gammaglobulintherapie von bakteriellen Infektionen in der Klinik 79

4. Das Peritonitismodell 80

5. Nebenwirkungen nach Gammaglobulinapplikation 83

a) Die anaphylaktoide Reaktion 83

b) Die phlogistische Reaktion 85

6. Das Peritoneum als semipermeable Membran 89

7. Das Dosisproblem 90

8. Das Plasmin-gespaltene Gammaglobulinpräparat 91

9. Die Beteiligung der Lungen 94

10. Die Organverteilung der Gammaglobuline 95

11. Die Aufspaltung der Gammaglobuline 101

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen 104

Literatur 108

Einleitung.

1. Historischer Überblick.

Bereits im griechischen Altertum sind Pestkranke von Menschen gepflegt worden, die die Krankheit hinter sich gebracht und überlebt hatten, aus der Erfahrung, daß dabei eine erneute Erkrankung selten war (45). Die moderne Immunologie und Immunbiologie jedoch begann mit der Entdeckung der Antitoxine. Bereits im Jahre 1890 veröffentlichten v. BEHRING und KITASATO ihre Arbeit "Über das Zustandekommen der Diphterieimmunität bei Thieren." Emil v. BEHRING wandte erstmals ein Anti-Diphterie-Serum, das von Schafen gewonnen worden war, erfolgreich bei Patienten mit Diphterie an (14). In den folgenden Jahren bemühte man sich, weitere Erkenntnisse über die immunologischen Eigenschaften des Serums zu erhalten. Man entdeckte die Agglutination und die Präzipitation, man beschrieb das hitzeempfindliche Alexin, heute Komplement genannt (15). Paul EHRLICHS Versuche, Methoden für genaue quantitative Messungen zu entwickeln, bildeten die Grundlage für spätere Antitoxin-Standardisierungen (29, 45). Im Jahre 1905 nannten PIRQUET und SCHICK den Symptomenkomplex, der nach mehrmaliger Applikation von Pferdeserum auftreten kann, Serumkrankheit (45).

Jahrzehntelang wußte man über die Struktur der Antikörper nicht mehr, als daß es sich um Globuline handeln mußte, bis

TISELIUS und KABAT sie aufgrund ihrer elektrophoretischen Beweglichkeit als Gammaglobuline bezeichneten (15, 45). Nach weiteren 2o Jahren erbrachten GRABAR et al. im Rahmen der Entwicklung der Immunelektrophorese den Nachweis der heterogenen Zusammensetzung der Gammaglobulinfraktion. Obwohl man, nachdem verschiedene Methoden zur Trennung menschlicher Gammaglobuline eingeführt worden waren - neben anderen die Alkoholfraktionierung nach COHN (19) -, die Immunglobuline isolieren konnte, wußte man noch wenig über Struktur und Bildungsort. FAGRAEUS konnte nach dem 2. Weltkrieg eine enge Korrelation zwischen der Plasmazellproliferation und dem Antikörpertiter feststellen (15, 45). Im Jahre 1959 entdeckte PORTER die Papain-Verdauung der Immunglobuline und lieferte damit einen wichtigen Beitrag zur Strukturerkennung (73).

Seit mehr als 30 Jahren sind nun Gammaglobuline zur Therapie und Prophylaxe auf dem Markt. In dieser Zeit kamen auch erstmals humane Gammaglobuline zum Einsatz (11, 78, 91). Bald darauf wurden Immunglobuline zur Substitution bei Agammaglobulinämien sowie bei verschiedenen Formen von Antikörpermangelzuständen mit Erfolg eingesetzt (9, 11, 44, 52). Eine gesicherte Indikation stellt dabei die Infektion mit bestimmten Viren dar. Anders allerdings ist die Situation bei bakteriellen Infektionen von Patienten ohne feststellbares Antikörpermangelsyndrom (4, 9, 11, 26, 34, 68, 78, 82, 93, 99). Es existieren

seit Jahren viele positive klinische Fallberichte über die intravenöse Therapie von bakteriell bedingten Infektionen mit Gammaglobulinen. Kontrollierte klinische Studien in größerer Zahl, die ihre Wirksamkeit bei diesen Infektionen schlüssig beweisen würden, fehlen jedoch bis heute.

Bei den momentan erhältlichen Immunglobulinpräparaten handelt es sich - wie bereits erwähnt - zum größten Teil um humane Gammaglobuline. Tierische Präparationen sind nur noch als Antitoxine gegen einige Infektionskrankheiten und als Antilymphozyten- bzw. Antithymozytenserum zur Immunsuppression gebräuchlich.

2. Struktur und Funktion der Immunglobuline.

Die Struktur der Immunglobuline und der Mechanismus ihrer Synthese wurde unter anderem an Myelomproteinen aufgeklärt (15,45). Diese besitzen aufgrund ihrer monoklonalen Entstehung einen einheitlichen Aufbau.

Man unterscheidet heute fünf humane Immunglobulinklassen, nämlich das Ig G, Ig M, Ig A, Ig D und das Ig E gemäß den immunologisch unterscheidbaren schweren Ketten, die mit γ, α, μ, δ und ε gekennzeichnet werden. Die leichten Ketten sind für alle Gammaglobulinklassen in Form von nur zwei verschiedenen Ausprägungen gleich und werden κ bzw. λ-Ketten genannt. Das Ig G ist aus zwei leichten und zwei schweren Aminosäureketten aufgebaut,

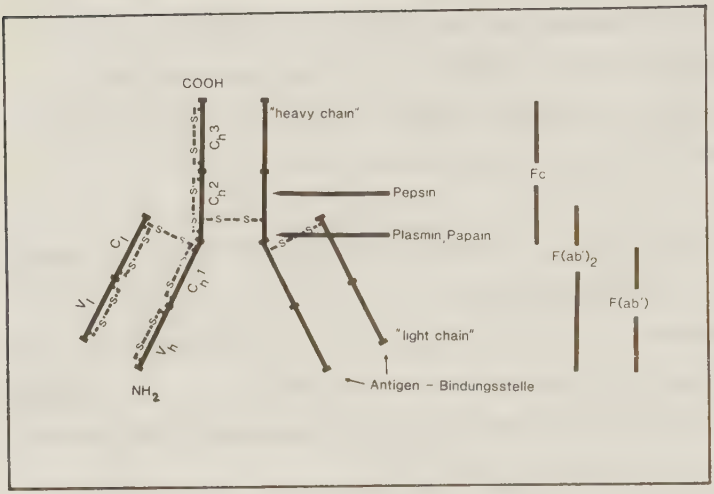


Abb. 1:
Das strukturelle Prinzip der Immunglobuline
(modifiziert nach 11, 15, 45, 76, 78, 93, 102, 103)

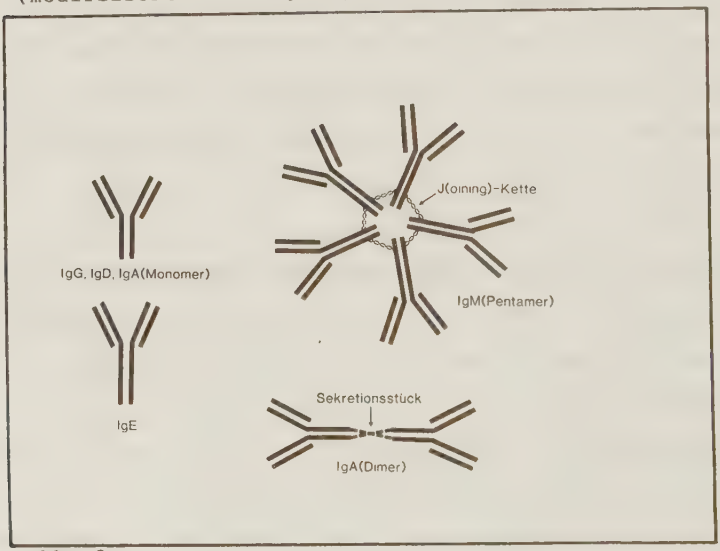


Abb. 2:
Die verschiedenen Immunglobulinklassen
(modifiziert nach 15, 45, 77, 102, 103)

die untereinander durch Disulfidbrücken, Wasserstoffionenbindungen und kovalente Bindungen verknüpft sind (Abb. 1). Die N-terminalen Enden der leichten und der schweren Ketten (V_l, V_h) sind durch eine variable Aminosäuresequenz gekennzeichnet und besitzen die antigene Spezifität. Das C-terminale Ende der schweren Ketten (C_h2, C_h3, C_h4) besitzt eine relativ konstante Aminosäuresequenz und ist für die Komplementfixierung verantwortlich. Subdeterminanten des Fc-Teils, die durch eine unterschiedliche Anzahl und Lage von Disulfidbrücken gekennzeichnet sind, bestimmen vier Unterklassen des Ig G. Die anderen Immunglobuline sind prinzipiell ähnlich aufgebaut (Abb. 2), jedoch liegt das Ig M als Pentamer vor, das Ig A kann auch als Dimer und als Polymer vorkommen und ist auf Schleimhäuten durch ein sekretorisches Stück vor der enzymatischen Verdauung geschützt.

Wie man aus Tab. 1 ersehen kann, macht das Ig G mengenmäßig den Hauptteil der Serumimmunglobuline aus. Sein Molekulargewicht beträgt 150000 Dalton, es besitzt die längste Halbwertszeit, ist als einziges Immunglobulin plazentagängig, bindet Komplement und hat die Fähigkeit zur antibakteriellen Lysis. In den beiden zuletzt genannten Eigenschaften wird das Ig G allerdings vom Ig M bei weitem übertroffen (Tab. 1). Das Ig M besitzt darüberhinaus besondere Bedeutung innerhalb der Frühreaktion des Organismus gegen bakterielle Infektionen.

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Molekulargewicht · 10^3	150	150 - 400	900	180	190
Sedimentationskonstante	7S	7S - 13S	19S	7S	8S
Serumkonzentration (mg/100ml)	1300 - 2200	80 - 280	60 - 170	3	0,05
Halbwertszeit (Tage)	20 - 25	5	5	3	2 - 3
Komplementfixierung	+	-	+++	-	-
antibakterielle Lysis	+	+	+++	?	?
Plazentagängigkeit	+	-	-	-	-

Tab. 1:
Eigenschaften menschlicher Immunglobuline
(nach 15, 45, 76)

Neue Ergebnisse aus jüngerer Forschung lassen darauf schließen, daß die Immunglobuline neben ihrer humoralen Abwehrfunktion auch eine zwischen humoraler und zellulärer Abwehr vermittelnde Aufgabe besitzen (93, 103).

3. Methoden zur Verbesserung der intravenösen Verträglichkeit der Gammaglobulinpräparate.

In den heute erhältlichen Immunglobulinpräparaten sind Ig M und Ig A, wenn überhaupt, nur in geringen Mengen vorhanden. Die Nativpräparate bestehen also in der Hauptsache aus unge-

spaltenen 7S-Ig G-Molekülen (S für Sedimentationskonstante). Die restlichen Klassen fehlen. Allerdings kann man auch eine nicht zu vernachlässigende Menge von Ig G-Aggregaten finden (Tab. 2), die wegen ihrer antikomplementären Wirkung bei i.v. Applikation zum Teil zu anaphylaktoiden Reaktionen besonders bei Menschen mit einem Antikörpermangelsyndrom führen können (3, 6, 36, 37). Diese Aggregatbildung scheint durch den Fc-Teil des Moleküls mitverursacht zu werden (6, 11, 37). Um die intravenöse Verträglichkeit zu verbessern, bemühte man sich, das native Molekül an verschiedenen Stellen chemisch zu modifizieren. Vor allen Dingen versuchte man, die antikomplementäre Wirkung des Fc-Teils zu verringern, mußte aber Einbußen in den biologischen Funktionen, für die dieser Teil des Moleküls verantwortlich ist, hinnehmen, wie Komplementbindungsfähigkeit, Opsonierung, Phagozytose von Bakterien, Plazentapassage, Zytotoxizität usw. So hat man im Laufe der vergangenen Jahre versucht, durch enzymatische Spaltung oder andere chemische Modifizierungen des Fc-Teils die Verträglichkeit von Gammaglobulinen zu verbessern. Im Folgenden seien die wichtigsten Methoden kurz erläutert.

Plasmin und Papain spalten vor der Diusulfidbrücke, die die beiden schweren Ketten verbindet. Man erhält Moleküldrittel mit dem antigenbindenden Bereich, welche Fab (fragment antigen binding) genannt werden, weiter Fc-Fragmente. die so bezeichnet werden, weil sie durch die enzymatische Behandlung auskristallieren (fragment crystalline) (Abb. 1, Tab. 2). Ein Teil der

Ig G-Moleküle ist jedoch resistent gegen die Plasminspaltung. Es handelt sich dabei um die Subklassen Ig G 2 und Ig G 4, sowie einem Teil des Ig G 1, wobei die beiden ersteren nur eine geringe bzw. keine Komplementbindungsfähigkeit über den klassischen Aktivierungsweg besitzen (13, 25, 73, 76, 104, 105, 106).

Das Stabilisierungsverfahren mit Polyäthylenglycol (PEG) und Hydroxyäthylstärke (HES) verhindert die massive Aggregation des Gammaglobulins. Man entfernt somit die antikomplementäre Aktivität (88, 89) und erhält intaktes Gammaglobulin (Tab. 2). Inwieweit nicht doch ein Rest von Aggregaten übrig bleibt, scheint noch nicht endgültig geklärt zu sein (78).

Durch die ß-Propiolacton-Behandlung werden Lysingruppen des konstanten Teils des Moleküls alkyliert und acyliert (111).

	Polymere	7S IgG	$F(ab')_2$	Fab/Fc	pFc
Standard-GG	15 - 20 %	80 - 95 %	-	-	-
Plasmin-GG	-	35 %	-	65 %	-
Pepsin-GG	-	5 %	85 %	5 %	5 %
PEG/HES-GG	10 - 15 %	90 - 95 %	-	-	-
ß-Propiolacton-GG	5 %	95 %	-	-	-
pH-4-GG	5 - 10 %	85 - 90 %	2 - 5 %	-	2 - 5 %

Tab. 2:
Molekulare Zusammensetzung der verschiedenen Gammaglobulinpräparate (modifiziert nach 78)

Obwohl anscheinend keine immunogene Wirkung provoziert wird (107, 111, 113), könnte man annehmen, daß durch die Manipulation am Fc-Teil Komplementbindungsstellen so alteriert werden, daß biologische Funktionen nur noch eingeschränkt wahrgenommen werden können (11, 91). Komplementbindende Aggregate finden sich noch zu einem geringen Prozentsatz (Tab. 2).

Der durch Inkubation bei pH4 erhaltene polymere Anteil der Gammaglobuline soll die Komplementbindungsfähigkeit verloren haben (6, 9, 11), während das intakte 7S-Molekül, welches die Hauptfraktion dieser Methode ausmacht (Tab. 2), weiter bei antigenem Kontakt Komplement bindet.

Pepsin spaltet das Immunglobulinmolekül hinter der die schweren Ketten verbindenden Disulfidbrücke auf. Man erhält hauptsächlich bivalente $F(ab')_2$-Bruchstücke (70), aber auch andere Fragmente sowie ca. 5% ungespaltenes Immunglobulin (Abb. 1,Tab. 2).

In jüngster Zeit wird auch in der BRD über die Entwicklung und den klinischen Einsatz eines sulfonierten Gammaglobulins berichtet. Es handelt sich hierbei um die Spaltung von Disulfidketten, die in vivo nach kurzer Zeit wieder rückgängig gemacht wird. Die Bildung von Aggregaten soll dadurch eingeschränkt werden (40, 64, 96).

Fragestellung.

Die Wirksamkeit der Anwendung von Gammaglobulinpräparaten bei schweren bakteriellen Infektionen ist - wie bereits einleitend erwähnt - nicht gesichert, obwohl sie bei vielen Infektionen dieser Art eingesetzt werden. Davon ausgehend und unter Berücksichtigung der verschiedenen Präparate wurde im Rahmen dieser Arbeit versucht, eine experimentell gesetzte Peritonitis bei der Ratte allein mit Gammaglobulin zu therapieren, und damit in einem kliniknahen tierexperimentellen Modell die antiinfektiöse Wirkung von Gammaglobulinen abzuklären. Dabei sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Gibt es Unterschiede in Bezug auf Letalität und Wirkungsgrad zwischen den verschieden modifizierten, bei der experimentellen Peritonitis eingesetzten Gammaglobulinpräparaten?

2. Geht das Lungenfeuchtgewicht infizierter, überlebender Tiere unter Therapie mit Gammaglobulinen im Vergleich zu Überlebenden der Kontrollgruppe ohne Therapie zurück?

3. Gibt es Unterschiede in der Organverteilung verschieden hergestellter Gammaglobuline untereinander sowie im Vergleich infizierter zu gesunden Tieren?

4. Inwieweit lassen sich die einzelnen Immunglobulinpräparate im Plasma und im Peritonealexsudat in großmolekularer Form

nachweisen? Unterliegen die Präparate innerhalb der ersten 16 - 20 Stunden nach Applikation einer Aufspaltung?

Material und Methoden.

1. Gammaglobulinpräparate.

Es wurden untersucht

- ein nicht modifiziertes Standard-Gammaglobulin (Behringwerke AG, Marburg),

- ein 7S-PEG-Präparat (Armour Pharma, Krefeld. In einem modifizierten Verfahren wird Hydroxyäthylstärke nicht mehr verwendet.),

- ein Pepsin-verdautes Immunglobulin (Behringwerke AG, Marburg),

- ein Plasmin-verdautes Gammaglobulin (Rhône-Poulenc Pharma GmbH, Norderstedt),

- ein 7S-pH4-Präparat (Sandoz AG, Nürnberg),

- ein 7S-ß-Propiolacton behandeltes Gammaglobulin (BIOTEST-Serum-Institut GmbH, Frankfurt a. M.),

- ein Humanalbumin (Rhône-Poulenc-Pharma GmbH, Norderstedt) als Vergleichspräparat.

2. Versuchsplanung und Versuchsablauf, Materialgewinnung.

a) Doppelradialdiffusionstest nach OUCHTERLONY auf Ratten-Antikörper gegen humanes Gammaglobulin und Albumin.

Die verwendeten humanen Gammaglobuline sind für die Ratten heterologe Seren. Der Gedanke lag nahe, Rattenplasma auf mögliche präformierte, kreuzreagierende und reaktive Antikörper zu untersuchen. Dazu wurde Blut von jeweils fünf gesunden und unbehandelten Tieren vor Belastung mit den jeweiligen humanen Immunglobulinen entnommen, heparinisiert (Thrombophob, Fa. Nordmark), zentrifugiert und das Plasma bis zur weiteren Verarbeitung im Kühlschrank bei -20°C aufbewahrt. Danach wurden 150 mg der verschiedenen Gammaglobuline oder des Humanalbumins intraperitoneal appliziert, nach einer Woche mit derselben Dosis geboostert und nach einer weiteren Woche nochmals durch Herzpunktion Blut abgenommen (Abb.3). Das Plasma eines jeden Tieres wurde mittels des Doppelradialdiffusionstests nach OUCHTERLONY auf die Antikörper untersucht (71). Dazu wurden Objektträger mit Methylalkohol oder Schwefelsäure entfettet, mit einer dünnen Schicht 2%iger Agarlösung versehen und danach für kurze Zeit in den Trockenschrank gelegt. Das Diffusionsgel wurde in Form von 1,5%iger Agarlösung mit 2,5 ml pro Objektträger aufgetragen. Mit einer Stanzschablone wurden Löcher in das Gel gestanzt. Anschließend wurde das Plasma der mit den verschiedenen Präparaten behandelten Tiere sowie das humane Immunglobulin bzw. das Albumin eingefüllt. Danach kamen die Träger für ca. 24 Stunden in eine feuchte Kammer. In dieser

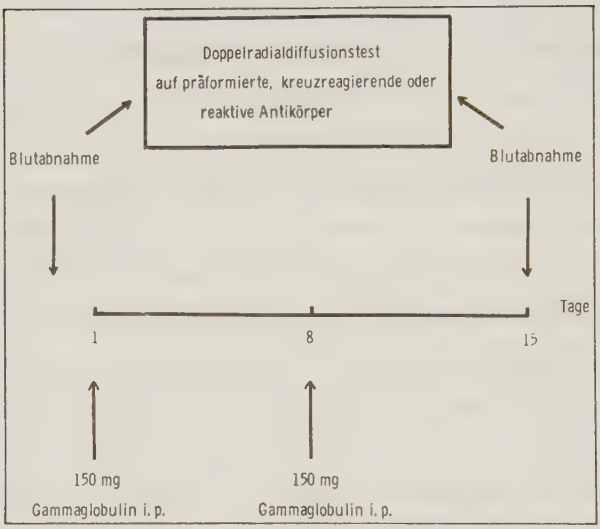


Abb. 3:
Versuchsschema zum Doppelradialdiffusionstest

- Vor der Applikation des jeweiligen Gammaglobulins wurde gesunden, unbehandelten Tieren Blut entnommen.

- Nach zweimaliger intraperitonealer Gabe von 15o mg Gammaglobulin im Abstand von einer Woche wurde am 15. Tag nochmals Blut abgenommen.

- Beide Blutproben wurden auf Antikörper gegen das jeweils interessierende Gammaglobulin untersucht.

Zeit wandern Antigen und der eventuell vorhandene bzw. gesuchte Antikörper aus benachbarten Stanzlöchern in dem neutralen Agargel aufeinander zu und bilden bei Korrespondenz Präzipitationslinien. Nach wenigstens einem Tag wurden die Träger zwei bis drei Tage in 0,9%iger Kochsalzlösung gewässert, mit Aqua dest.

nachgespült und mit angefeuchtetem Filterpapier getrocknet. Zum Schluß wurden die Objektträger für jeweils fünf Minuten in 2%ige Essigsäure, zur Färbung in Amidoschwarzlösung und zur Entfärbung in aufsteigender Reihe in verschiedene im Verhältnis von 9 : 1 gemischte Methanol-Eisessig (96%ig)-Lösungen gelegt. Das Ergebnis der Immundiffusion wurde dokumentiert.

Herstellung der Materialien.

- 2%ige Agarlösung:
  0,6 g Agar (Behringwerke AG, Marburg) in 30 ml Agarose-Puffer zum Kochen bringen.
- 1,5%ige Agarlösung:
  4,5 g Agar in 300 ml Agarose-Puffer zum Kochen bringen.
  Zur Verhinderung einer Kontamination mit Bakterien und Pilzen wurden einige Gramm Cialit (ASID Bonz und Sohn GmbH, Unterschleißheim) hinzugegeben.
- Agarose-Puffer:
  9,81 g Na-Veronal
  6,48 g Na-Acetat * 3 H_2O
  60 ml 0,1 n HCl
  mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen und auf pH 8,6 einstellen. Zum Gebrauch wurde der Puffer mit Aqua dest. im Verhältnis 1 : 2 verdünnt.
- Amidoschwarzlösung:
  1 g Amidoschwarz (Fa. Merck)
  6,12 g Na-Acetat * 3 H_2O
  2,6 ml Eisessig 96%

100 ml Glycerin 30%

mit Aqua dest. auf 500 ml auffüllen.

b) Radioaktive Markierung der Proteine.

Die Methode nach FRANKS, TAKEDA, REEVE (35) bildete die Grundlage der Proteinmarkierung mit ^{131}J.

In einer auf ca. 0°C abgekühlten Glaskammer wurden die zu markierenden Immunglobuline bzw. das Albumin im Verhältnis 2 : 1 mit einem Glycinpuffer gut durchmischt. Weiter wurde die NaJ^{131}-Lösung (Amersham Buchler, Braunschweig) der gewünschten Aktivität mit NaCl auf 1 ml aufgefüllt, mit sechs Tropfen 1 n HCl angesäuert und mit sechs Tropfen einer $NaJO_3$/NaJ-Lösung versetzt. Der entstandene braun-violette Ring nach Zugabe zum Protein-Glycinpuffer-Gemisch verschwand bei einer gelungenen Markierung noch während des Rührens. Zur Entfernung des überschüssigen, nicht gebundenen ^{131}J wurde eine Chromatographie mit Sephadex G-25 angeschlossen. Zur Erstellung eines Standards wurden bei jedem markierten Präparat je drei Proben der radioaktiven Proteinlösung zu 0,1 ml mittels des Scintillationsspectrometers gemessen und hieraus der Mittelwert der Impulse pro Minute (cpm) berechnet. Die Aktivität wurde auf 3 ml (= 100 mg Protein) hochgerechnet.

Herstellung der Materialien.

- $NaJO_3$/NaJ-Lösung:

  200 mg NaJ

50 mg $NaJO_3$

in 50 ml Aqua dest. lösen.

- Glycinpuffer:

2,93 g NaCl

3,75 g Glycin

in 50 ml Aqua dest. lösen. Diese Lösung mit 1 n NaOH im Verhältnis 4 : 1 mischen und auf pH 9,3 einstellen.

c) Untersuchungen zur Aufspaltung der Gammaglobuline verschiedener Modifikation innerhalb des Organismus.

Das, etwa 20 Stunden nach Setzen der Infektion gewonnene, gepoolte Plasma infizierter und nicht infizierter Tiere, das Peritonealexsudat der Tiere mit Peritonitis sowie das jeweilige Präparat selbst wurden mit Sephacryl S-200 radiochromatographiert, um Hinweise auf die großmolekulare Zusammensetzung bzw. die Aufspaltung der verabreichten Gammaglobuline und des Albumins in diesen Flüssigkeiten zu erhalten.

Bei der Gelfiltration werden Moleküle in der Reihenfolge ihres Molekulargewichts aufgetrennt. Kleinporige Gele, z.B. S(G)-25, eignen sich hauptsächlich zur Trennung kleiner Moleküle von größeren, wobei die Trennschärfe bei einem Molekulargewicht von 25000 liegt. Großporige Gele, z.B. S(G)-200 gestatten die Trennung von Makromolekülen mit einem Molekulargewicht von 100000 - 200000. Dabei erscheinen großmolekulare Bestandteile zuerst im Eluat, kleinermolekulare folgen nach (15).

Eine Chromatographiesäule (Durchmesser 2,0 cm; Normschliff, Gerätebau Wertheim) wurde mit 75 ml Sephacryl S-200 superfine (preswollen; Fa. Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Sweden) gefüllt. Um zu vermeiden, daß bei der Zugabe der zu chromatographierenden Flüssigkeit das großporige Gel aufschwemmt, wurden zusätzlich 7 ml Sephadex G-25 (Fa. siehe oben) darübergeschichtet. Nach einem Vorlauf von 10 ml NaCl wurde vorsichtig 1 ml der zu messenden Flüssigkeit auf das Gel aufpipettiert und über ein Infusionsbesteck weiter tropfenweise NaCl nachgegeben. Die Durchlaufgeschwindigkeit betrug ca. 30 ml pro Stunde. Das Eluat wurde in Portionen von 1 ml aufgefangen (LKB Ultrorac Fraction Collector, LKB-Producter AB, S-16125, Bromma, Sweden) und die in jeweils 1 ml Eluat enthaltene proteingebundene Aktivität im Scintillationsspectrometer gemessen und auf Prozent der in 1 ml der zu messenden Flüssigkeit enthaltenen Aktivität umgerechnet.

Um Anhaltspunkte dafür zu erhalten, in welchen Größenordnungen sich das Molekulargewicht der großmolekularen Immunglobulin- bzw. Albuminspaltprodukte bewegt, wurde an Hand eines Gemisches von mit ^{14}C markierten Proteinen definierten Molekulargewichtes (Radiochemical batch analysis, Amersham Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig) eine Eichkurve erstellt. Dieses Gemisch bestand aus Myosin (Mol.-Gew.: 200000), Phosphorylase b (92000), Serumalbumin (69000), Ovalbumin (46000), Carboanhydrase (30000) und Lysozym (14300).

d) Peritonitismodell und Therapie.

Jede Therapiegruppe bestand aus 20 Sprague Dawley Ratten mit einem Gewicht zwischen 250 und 350 g, das Durchschnittsgewicht der Tiere einer Gruppe lag bei ca. 300 g. Die Kontrollgruppe ohne Therapie umfaßte 34 Tiere.

Das Peritonitismodell von ECKERT et al., das zur Überprüfung der Wirksamkeit eines Pepsin-gespaltenen Gammaglobulins und eines Antibiotikums entwickelt worden war (28), wurde für die vorliegenden Untersuchungen abgeändert. ECKERT devaskularisierte ein proximales Jejunumsegment, eröffnete es semizirkulär und setzte so eine Peritonitis mit einer Letalität von 100%. In Anlehnung an dieses Modell bestand die Modifikation darin, nach einem medianen Bauchschnitt eine etwa 10 mm lange Colonincision ohne Devaskularisation unter Chloralhydratnarkose (3,6%ig, 1 ml pro 100 g Körpergewicht) zu induzieren (Abb. 4). Dieses Modell ist mit der klinischen Situation einer Nahtinsuffizienz im Dickdarmbereich besser vergleichbar. Die Colonincision blieb unverschlossen. Innerhalb von 24 - 48 Stunden entwickelte sich eine kotig eitrige Peritonitis. Noch vor dem endgültigen Verschluß des Bauchsitus wurden bei behandelten Versuchstieren sofort 150 mg des jeweiligen Immunglobulins oder des Humanalbumins intraperitoneal verabreicht (Abb. 5). Dieselbe Dosis wurde an den vier folgenden Tagen durch die verschlossenen Bauchdecken i.p. gegeben (Abb. 6).

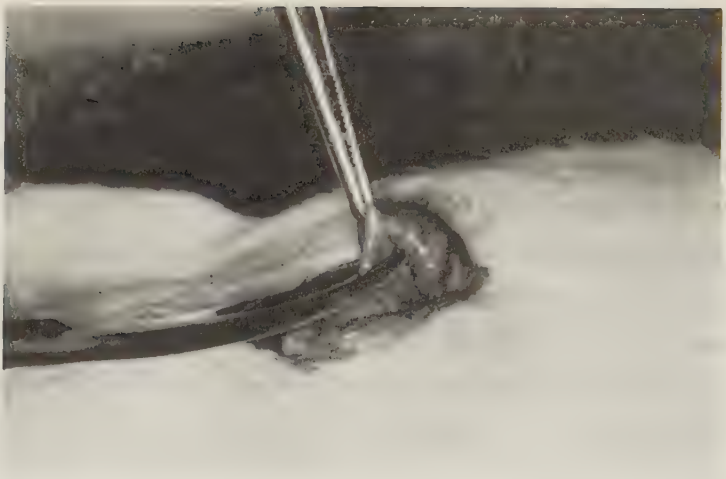


Abb. 4:
Colonincision.

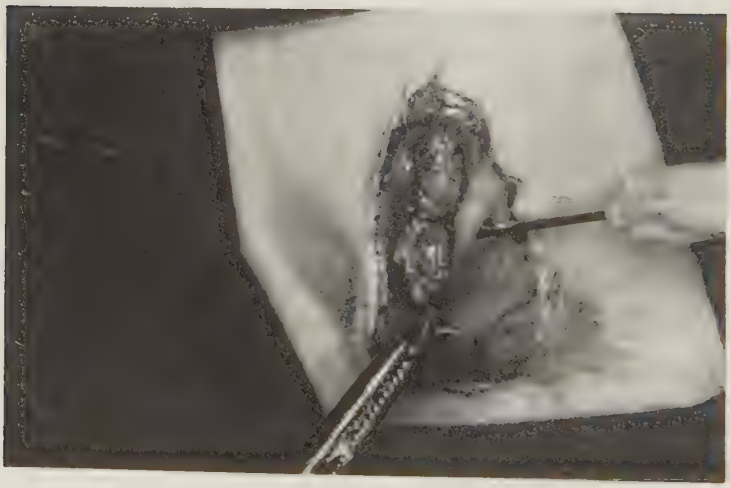


Abb. 5:
Intraperitoneale Applikation von 150 mg des jeweiligen Immunglobulins bzw. des Humanalbumins vor dem endgültigen Verschluß des Bauchsitus.

Die Ratten waren vor Beginn des Experimentes in Sammelkäfigen unter Standardbedingungen gehalten worden und wurden nach dem Setzen der Infektion in Einzelkäfigen untergebracht. Die Tiere erhielten Wasser und Futter nach Belieben (Standard-Diät für Ratten und Mäuse, pathogenfrei, Fa. Altromin, Large Lippe). Der Beobachtungszeitraum umfaßte fünf Tage. In dieser Zeit läuft die akute Phase der experimentellen Peritonitis ab. Ihre Folgen, z.B. intraperitoneale Verwachsungen, die sekundär zum Tode führen können, galten nicht als Beobachtungskriterium.

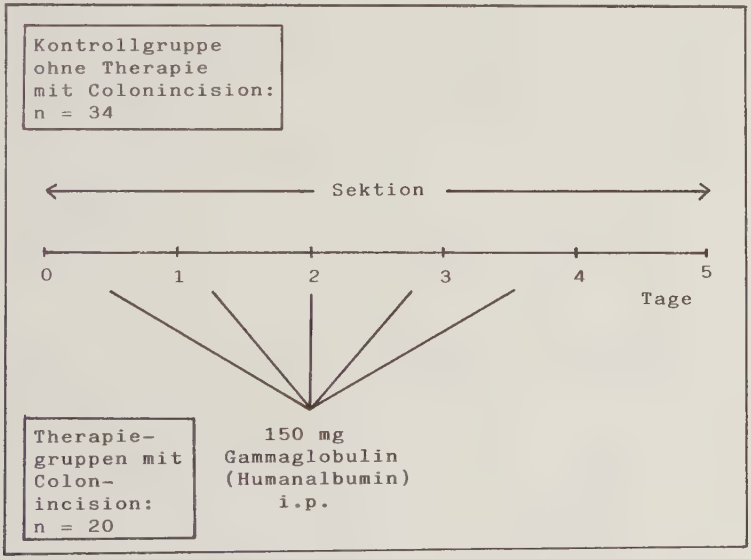


Abb. 6:
Versuchsschema zu den Letalitätsstudien.

- Die Tiere der verschiedenen Therapiegruppen erhielten bis zum 4. postoperativen Tag fünf intraperitoneale Injektionen von jeweils 150 mg des Gammaglobulins bzw. des Humanalbumins.
- Alle innerhalb des Beobachtungszeitraums von fünf Tagen gestorbenen Tiere sowie die überlebenden Tiere wurden seziert.

e) Nachweis der entstandenen Peritonitis.

Bei allen verstorbenen Tieren fand sich eine fäkulante Peritonitis mit fibrinösem Exsudat und leichten Verklebungen der Darmschlingen. Weiter wurde die Peritonitis durch eine mikrobiologische Untersuchung von Peritonealabstrichen gesichert. Dazu wurde mittels eines sterilen Rayon-Tupfers (Marion Scientific Corp., Subsidiary of Marion Health and Safety, Inc., Rockford, Illinois, USA) zehn Abstrichproben des Peritonealexsudats zehn verschiedener infizierter Tiere entnommen. Jedes Abstrichröhrchen enthält 0,5 ml eines modifizierten Stuart-Transportmediums (Natriumglycerophosphat 1,0%, Natriumthioglycolat 0,1%, Calciumchlorid 0,01%). Diese Zusammensetzung gewährleistet die Erfassung von aeroben, fakultativ aeroben und anaeroben Keimen (123). Dabei fand sich hauptsächlich E. coli und Proteus vulgaris.[1].

f) Überlebensrate und Wirkungsindex.

Alle innerhalb des Beobachtungszeitraums ad exitum gekommenen Tiere sowie die Ratten, die den vierten postoperativen Tag überlebt hatten, wurden seziert, beide Lungenflügel entnommen und deren Feuchtgewicht bestimmt (Abb. 6). Die Überlebensraten wurden festgehalten. Neben der Absterberate wurde ein Wirkungsgrad der verschiedenen Gammaglobuline errechnet (120). Die Berechnung dieses Wirkungsgrades erweist sich deshalb als sinnvoll, weil es nicht gleichgültig ist, ob ein Tier akut inner-

1. Medizinisch-Diagnostisches Laboratorium
Dr. med. Barbara Kiskalt - Dr. med. Ernst Kiss
München

halb von 18 - 24 Stunden an einer Peritonitis mit septischem Schock verstirbt oder weitere Tage überlebt. In diese Formel geht somit die Anzahl der überlebten Tage einer jeden Gruppe ein. Sie lautet:

$$W_2 = \frac{\bar{x}_z}{z} \cdot 100$$

$$W_1 = \frac{\ddot{U} + W_2}{2}$$

$\bar{x}_z$: Mittelwert der überlebten Tage einer jeden Gruppe mit oder ohne Therapie.

z: Beobachtungszeitraum (hier fünf Tage)

Ü: Überlebensrate (dimensionslos)

g) Bestimmung der Organverteilung der Präparate.

Die Gammaglobulinpräparate und das Humanalbumin wurden auf ihre Verteilung im Organismus gesunder und infizierter Tiere hin untersucht. Je fünf Ratten ohne und mit Peritonitis wurden 100 mg (= 3 ml der radioaktiven Proteinlösung) eines mit ^{131}Jod markierten Präparats intraperitoneal appliziert. Zwischen 16 und 20 Stunden später wurden die Tiere getötet, die Organe entnommen und die Radioaktivität in Form der Impulsrate mit einem Mehrkanalspektrometer (Packard Gamma Scintillation Spectrometer, Model 5375; Packard Instrument Company, Inc., USA) in allen Geweben, im Blut, im Peritonealexsudat und im mittels eines Stoffwechselkäfigs aufgefangenen 16-Stunden-Sammelurin gemessen (Abb. 7). Die Impulse pro Minute (cpm = counts per

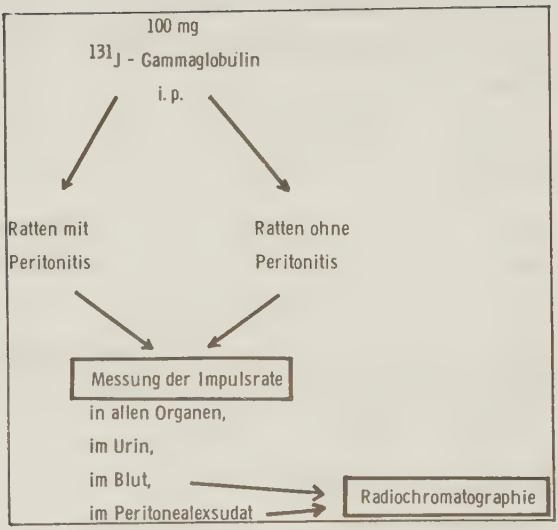


Abb. 7:
Versuchsschema zu den Verteilungsuntersuchungen

minute) wurden auf Prozent der applizierten Dosis umgerechnet und auf 1 g Organ bzw. Flüssigkeit bezogen.

h) Statistik.

Zum statistischen Vergleich der Organverteilungsunterschiede der verschiedenen Immunglobulinpräparate und des Humanalbumins bei und zwischen Tieren mit und ohne Peritonitis sowie bei den Vergleichen der Lungenfeuchtgewichte zwischen infizierten und nicht infizierten Ratten unter Therapie mit den verschiedenen Präparaten wurde der U-Test von WILCOXON, MANN und WHITNEY verwendet (75).

Dieser Test prüft bei zwei normalverteilten und nicht normalverteilten Stichproben, ob sich ihre Mittelwerte zufällig oder nicht zufällig signifikant unterscheiden. Die Einzelwerte der beiden Stichproben werden in einer Reihe aufsteigend so geordnet, daß jedem Wert eine Rangzahl zugewiesen werden kann. Die Summe der Rangzahlen der 1. Meßreihe sei R_1, die der 2. Meßreihe R_2. Der Umfang der 1. Meßreihe sei x, der der 2. Meßreihe y.
Es gilt:

$$U_1 = x \cdot y + \frac{x(x+1)}{2} - R_1$$

$$U_2 = x \cdot y + \frac{y(y+1)}{2} - R_2$$

Die Nullhypothese lautet hier:

$$H_o: \mu_1 = \mu_2 = \mu,$$

d.h. die Mittelwerte der beiden Reihen unterscheiden sich nicht signifikant.

Wenn nun die kleinere der beiden Größen U_1, U_2 kleiner oder gleich einem bestimmten Tabellenwert ist, muß die Nullhypothese abgelehnt werden. Es besteht dann mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit α ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden zu prüfenden Stichproben. Man geht z.B. bei $\alpha = 0{,}05$ davon aus, daß für 5% der Stichproben die Nullhypothese angenommen wird, d.h. kein signifikanter Unterschied zwischen den Reihen besteht.

Es soll darauf hingewiesen werden, daß mit keiner statistischen Berechnung etwas bewiesen werden kann, sondern ausschließlich mit einer gewissen Irrtumswahrscheinlichkeit eine Hypothese einer anderen vorgezogen wird.

Die Letalitätsraten unter Therapie mit den verschiedenen Immunglobulinen wurden mit der Sterberate ohne Therapie bzw. nach Humanalbuminapplikation mittels der Methode der Schnellschätzung der Vertrauensgrenzen einer beobachteten relativen Häufigkeit nach CLOPPER und PEARSON verglichen (85). Mit diesem Verfahren wird aus dem Prozentsatz in der Stichprobe auf das Vertrauensintervall in der Grundgesamtheit geschlossen. Die statistische Sicherheit beträgt dabei 95%.

Die Werte der Organverteilungen der jeweiligen Präparate wurden als arithmetisches Mittel der Radioaktivitätsanteile in % der zugeführten Aktivität angegeben ($\bar{x}$).

Als Maß für die Streuung galt der mittlere Fehler des Mittelwerts ($s_{\bar{x}}$).

Ergebnisse.

1. Untersuchung zur Bestimmung von präformierten Ratten-Antikörpern gegen humanes Gammaglobulin und Albumin.

Mittels des Doppelradialdiffusionstests nach OUCHTERLONY ließen sich im Serum der Ratten ohne Peritonitis keine präformierten oder kreuzreagierenden Antikörper gegen irgendeines der untersuchten Gammaglobuline oder gegen das Humanalbumin nachweisen. Auch reaktive Antikörper nach Applikation der Gammaglobulinpräparate bzw. des Humanalbumins konnten nicht festgestellt werden. Bei keinem Präparat wurden Präzipitationslinien dokumentiert.

2. Mikrobiologische Untersuchung von Peritonealabstrichen.

Die Untersuchung von stichprobenweise entnommenen Abstrichen des entzündlichen Exsudats ergab das in Tab. 3 wiedergegebene Bild. Im allgemeinen waren sowohl der Peritonitiskeim E. coli als auch der gegenüber den meisten, auch breitspektrigen Antibiotika resistente Keim Proteus vulgaris kulturell nachweisbar.

Abstrich	1: Proteus vulgaris
"	2: Proteus vulgaris, E. coli
"	3: Proteus vulgaris, E. coli
"	4: Proteus vulgaris, E. coli
"	5: Proteus vulgaris, E. coli
"	6: Proteus vulgaris, E. coli
"	7: Proteus vulgaris, E. coli
"	8: Proteus vulgaris, E. coli
"	9: Proteus vulgaris, E. coli
"	10: Kultur steril

Tab. 3:
Bakteriologischer Untersuchungsbefund von Peritonealabstrichen bei Ratten mit Colonincision.

3. Sterberate und Wirkungsindex unter Therapie mit verschiedenen Gammaglobulinpräparaten.

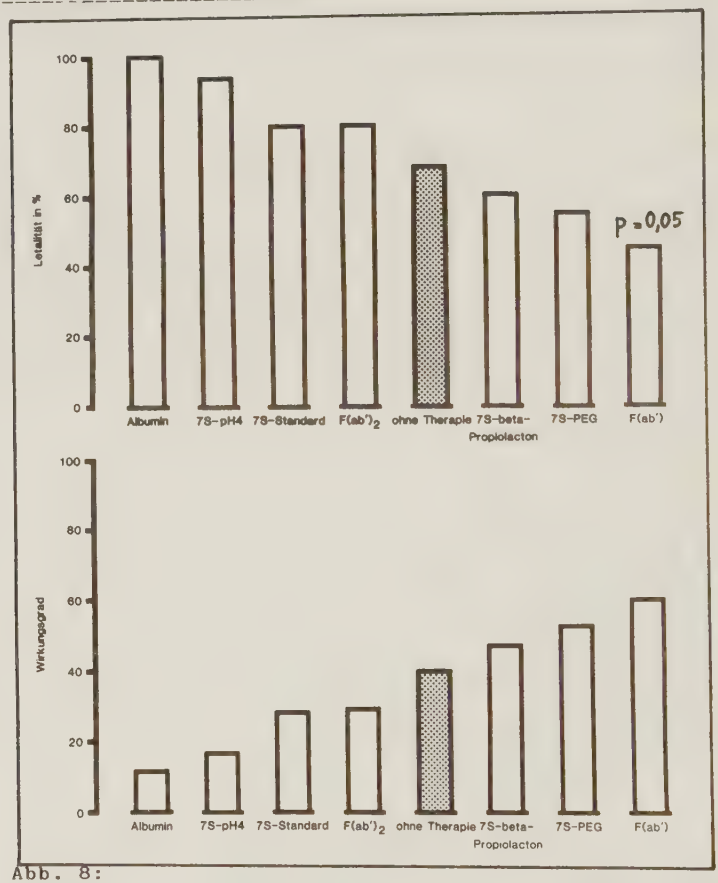


Abb. 8:
Sterberate ohne und unter Therapie mit verschiedenen Gammaglobulinpräparaten und ihr Wirkungsgrad bei der experimentellen Peritonitis der Ratte.

- Die Dosis betrug während des Beobachtungszeitraums von fünf Tagen 150 mg Gammaglobulin pro Tag.
- In den Wirkungsgrad geht die Anzahl der überlebten Tage ein.

Knapp 70% der infizierten Kontrolltiere ohne Behandlung verstarben innerhalb der ersten 48 Stunden, wobei kein Tier nach Albuminapplikation überlebte. Die Behandlung mit dem 7S-pH4-, dem 7S-Standard- und dem Pepsin-behandelten Gammaglobulin ergab eine Letalität von über 90 bzw. jeweils 80 %. Eine Verminderung der Letalitätsrate auf 60% wurde mit dem 7S-ß-Propiolacton-Gammaglobulin und auf 55% mit dem 7S-PEG-Gammaglobulin erzielt. Das beste Ergebnis bezüglich einer Verminderung der Letalitätsrate wurde jedoch mit dem Plasmin-gespaltenen Immunglobulin beobachtet. Die Letalität betrug hier nur noch 45% (Abb. 8). Dieser Unterschied ist signifikant zu den Kontrollexperimenten sowohl ohne Behandlung als auch mit Albuminapplikation.

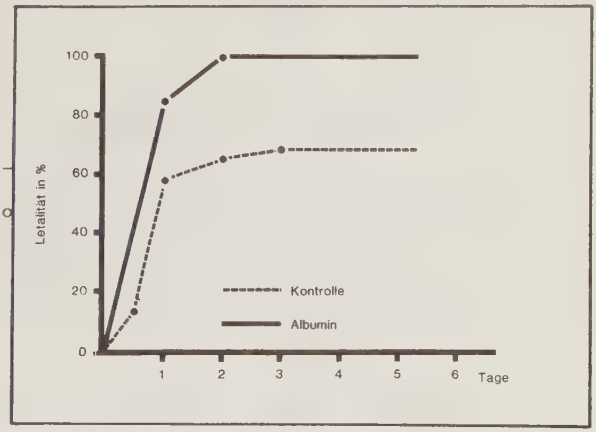


Abb. 9:
Anstieg der Sterbekurve innerhalb des Beobachtungszeitraums von fünf Tagen bei intraperitonealer Applikation von 150 mg des Präparats pro Tag im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Therapie bei der experimentellen Peritonitis der Ratte.

An dieser Stelle sei erwähnt, daß das Plasmin-gespaltene Präparat der ersten Versuchsreihe aus Plazentaextrakten gewonnen worden war, während alle anderen Präparate aus Humanserum extrahiert worden waren. Aus diesem Grunde untersuchten wir

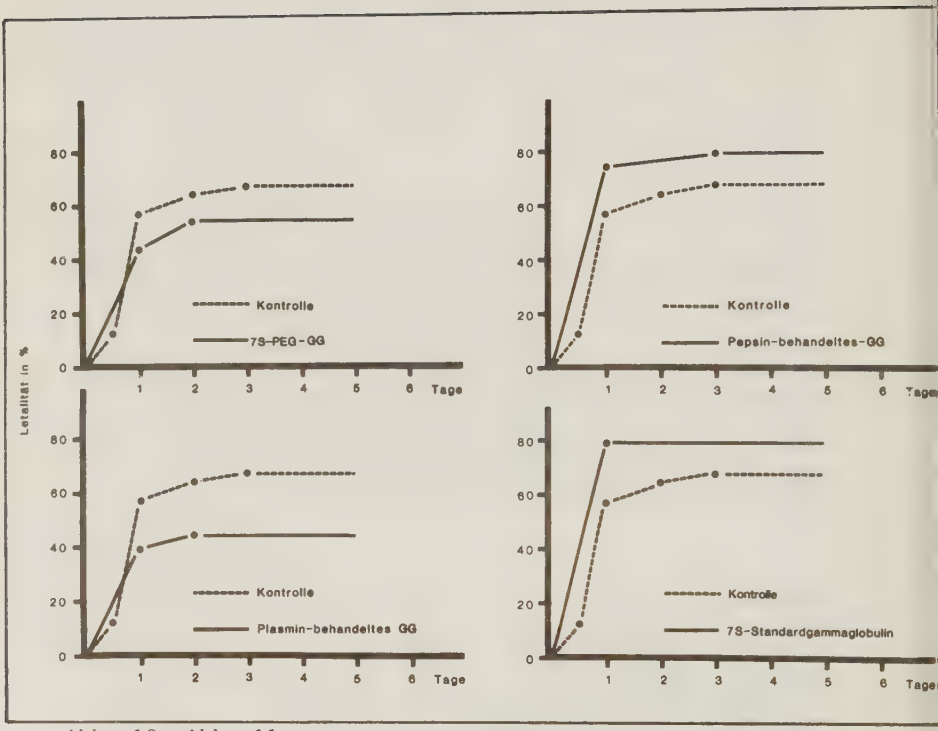


Abb. 10, Abb. 11:
Anstieg der Sterbekurven innerhalb des Beobachtungszeitraums von fünf Tagen bei intraperitonealer Applikation von 150 mg der verschiedenen Gammaglobuline pro Tag im Vergleich zu der Kontrollgruppe ohne Therapie bei der experimentellen Peritonitis der Ratte.

eine zweite Gruppe von Tieren mit einem ebenfalls aus Serum gewonnenen Plasmin-Gammaglobulin aus Vergleichsgründen gleichermaßen auf eine mögliche Letalitätssenkung. Dieses Präparat war von der gleichen Firma, die auch das aus Plazentaextrakten gewonnene Gammaglobulin fertigt, hergestellt worden. Auch hier

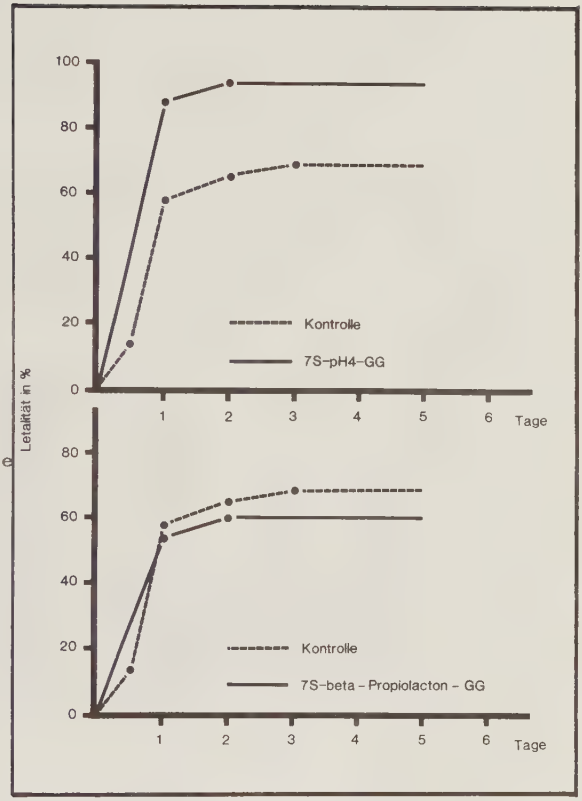


Abb. 12:
Anstieg der Sterbekurven innerhalb des Beobachtungszeitraums von fünf Tagen bei intraperitonealer Applikation von 150 mg der verschiedenen Gammaglobuline pro Tag im Vergleich zu der Kontrollgruppe ohne Therapie bei der experimentellen Peritonitis der Ratte.

betrug die Sterberate nur noch 45%.

Die errechneten Wirkungsgrade der einzelnen Präparate ändern das Bild kaum, da - wie bereits erwähnt - mit ganz wenigen Ausnahmen alle Tiere, die starben, innerhalb der ersten 48 Stunden ad exitum kamen (Abb. 9 - Abb. 12). Hier wird deutlich, daß die

endgültige Letalitätsrate im allgemeinen nach zwei Tagen erreicht wurde.

4. Lungenfeuchtgewichte.

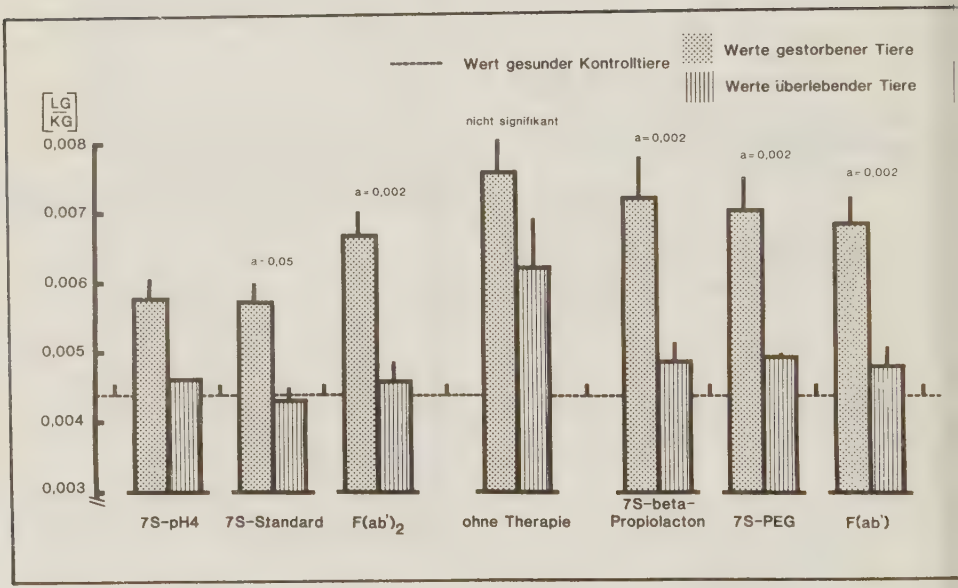


Abb. 13:
Quotient aus Lungenfeuchtgewicht und Körpergewicht gestorbener und überlebender Ratten unter Therapie mit verschiedenen Immunglobulinpräparaten bei der experimentellen Peritonitis der Ratte im Vergleich zu den Werten gesunder Kontrolltiere ohne Therapie.

Auf der Ordinate von Abb. 13 ist der Quotient aus Lungenfeuchtgewicht und Körpergewicht aufgetragen (110). Dieser Quotient soll einen möglichen Fehler, der sich aus dem leicht unter-

schiedlichen Körpergewicht der Tiere ergeben kann, ausgleichen. Die erste Säule repräsentiert die Werte der gestorbenen Tiere, die zweite die der überlebenden. Die entsprechenden statistischen Werte sind in den Tab. 4 - 7 dargestellt.

Tatsächlich sieht man bei der Kontrollgruppe ohne Therapie, bei den gestorbenen u n d überlebenden Tieren eine erhebliche Zunahme des Lungenfeuchtgewichtes bzw. des Quotienten aus Lungenfeuchtgewicht und Körpergewicht gegenüber dem Wert gesunder Tiere ohne Colonincision und Therapie, der sich auf der Abbildung als durchgezogene Linie darstellt. Weiter gehen die Werte der überlebenden Tiere bei allen Präparaten deutlich auf Bereiche nahe des Werts gesunder Tiere zurück, während der Rückgang des Quotienten bei überlebenden Tieren ohne Therapie als nicht signifikant gewertet werden muß. Eine Korrelation zwischen dem Rückgang des Lungenfeuchtgewichts bzw. des entsprechenden Quotienten unter Therapie und den Überlebensraten unter Therapie ergibt sich nicht. So weist z.B. das Standard-Gammaglobulin eine Überlebensrate von nur 20%, aber den relativ stärksten Rückgang des Lungenfeuchtgewichts auf.

n	30
$\overline{KG}$	320 ± 50
$\overline{LG}$	$1{,}386 \pm 0{,}037$
$\overline{LG/KG}$	$0{,}0044 \pm 0{,}00016$

$\overline{KG}$: durchschnittliches Körpergewicht der Tiere in Gramm

$\overline{LG}$: durchschnittliches Lungenfeuchtgewicht der Tiere in Gramm

$\overline{LG/KG}$: Quotient aus Lungenfeuchtgewicht und Körpergewicht

Tab. 4:
Durchschnittliches Körper- und Lungenfeuchtgewicht gesunder Kontrollratten mit einem Gewicht zwischen 200 und 400 g.

	7S-pH4	7S-Standard	$F(ab')_2$
n	18	20	20
Letalität(%)	94	80	8o
Wirkungsgrad	16,5	28	29
$\overline{KG}$ Gestorbene (g)	334 ± 44	316 ± 22	317 ± 31
$\overline{KG}$ Überlebende	274	257 ± 78	295 ± 23
$\overline{LG}$ Gestorbene (g)	1,88 ± 0,13	1,82 ± 0,09	2,17 ± 0,06
$\overline{LG}$ Überlebende (g)	1,27	1,25 ± 0,06	1.36 ± 0,08
$\overline{LG/KG}$ Gestorbene ($\cdot 10^3$)	5,58 ± 0,26	5,74 ± 0,23	6,70 ± 0,31
$\overline{LG/KG}$ Überlebende ($\cdot 10^3$)	4,64	4,33 ± 0,14	4,62 ± 0,26
Irrtumswahrscheinlichkeit des Unterschieds (α)	-	0,05	0,002

$\overline{KG}$: durchschnittliches Körpergewicht der Tiere

$\overline{LG}$: durchschnittliches Lungenfeuchtgewicht der Tiere

Tab. 5:
Letalität und Lungenfeuchtgewichte gestorbener und überlebender Ratten unter Therapie mit verschiedenen Gammaglobulinen bei der experimentellen Peritonitis der Ratte.

	ohne Therapie	7S-ß-Propiolacton	7S-PEG
n	34	20	20
Letalität (%)	68	60	55
Wirkungsgrad	40	47	52,5
$\overline{KG}$ Gestorbene (g)	297 ± 78	325 ± 31	288 ± 52
$\overline{KG}$ Überlebende (g)	289 ± 30	325 ± 15	308 ± 27
$\overline{LG}$ Gestorbene (g)	2,15 ± 0,09	2,31 ± 0,17	1,91 ± 0,1
$\overline{LG}$ Überlebende (g)	1,53 ± 0,14	1,58 ± 0,06	1,46 ± 0,02
$\overline{LG/KG}$ Gestorbene ($\cdot 10^3$)	7,61 ± 0,42	7,23 ± 0,57	7,05 ± 0,45
$\overline{LG/KG}$ Überlebende ($\cdot 10^3$)	6,23 ± 0,68	4,89 ± 0,23	4,96 ± 0,02
Irrtumswahrscheinlichkeit des Unterschieds (α)	-	0,002	0,002

$\overline{KG}$: durchschnittliches Körpergewicht der Tiere

$\overline{LG}$: durchschnittliches Lungenfeuchtgewicht der Tiere

Tab. 6:
Letalität und Lungenfeuchtgewichte gestorbener und überlebender Ratten ohne Therapie und unter Therapie mit verschiedenen Gammaglobulinen bei der experimentellen Peritonitis der Ratte.

	Fab	Humanalbumin
n	20	20
Letalität (%)	45	100
Wirkungsgrad	60	11,5
$\overline{KG}$ Gestorbene (g)	322 $\pm$ 28	260 $\pm$ 12
$\overline{KG}$ Überlebende (g)	306 $\pm$ 19	-
$\overline{LG}$ Gestorbene (g)	2,22 $\pm$ 0,15	1,71 $\pm$ 0,07
$\overline{LG}$ Überlebende (g)	1,49 $\pm$ 0,07	-
$\overline{LG/KG}$ Gestorbene (10^3)	6,85 $\pm$ 0,38	6,50 $\pm$ 0,28
$\overline{LG/KG}$ Überlebende (10^3)	4,83 $\pm$ 0,23	-
Irrtumswahrscheinlichkeit des Unterschieds (α)	0,002	-

$\overline{KG}$: durchschnittliches Körpergewicht der Tiere

$\overline{LG}$: durchschnittliches Lungenfeuchtgewicht der Tiere

Tab. 7:
Letalität und Lungenfeuchtgewichte gestorbener und überlebender Ratten unter Therapie mit dem Plasmin-behandelten Gammaglobulin und dem Humanalbumin bei der experimentellen Peritonitis der Ratte.

5. Organverteilung der Gammaglobulinpräparate.

Auf den Abb. 14 - 19 sind die Verteilungen der verschiedenen Immunglobulinpräparate in den einzelnen Organen dargestellt. Auf der Ordinate ist die Radioaktivität pro Gramm Organ bzw. Flüssigkeit, bezogen auf die ursprünglich verabreichte Dosis, aufgetragen. Die erste Säule zeigt die Werte gesunder Tiere, die zweite die von Tieren mit Peritonitis. In den Tab. 8 - 11 ist die Irrtumswahrscheinlichkeit im statistischen Vergleich zusammengestellt. Die Tab. 12 - 18 listen noch einmal die genauen Meßwerte der Radioaktivitätsanteile in % der zugeführten Radioaktivität pro Gramm Organ und Flüssigkeit sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit für einen Verteilungsunterschied zwischen Ratten ohne und mit Peritonitis auf.

Zwischen der Verteilung im Blut infizierter und der nicht infizierter Tiere ist für kein Präparat ein entscheidender Unterschied festzustellen. Alle ungespaltenen Präparate zeigen untereinander in beiden Gruppen Radioaktivität bzw. markiertes Gammaglobulin in vergleichbarer Höhe (Abb. 14). Bei Tieren ohne Infektion liegen die Werte zwischen 0,87% (7S-ß-Propiolacton-GG) und 1,57% (7S-PEG-GG) und bei Tieren mit Infektion zwischen 1,07% (7S-pH4-GG) und 1,27% (7S-PEG-GG) (Tab. 13, 16, 17). Gleichzeitig zeigt sich, daß mit Ausnahme des 7S-ß-Propiolacton-GG alle ungespaltenen Präparate bei gesunden Tieren signifikant höhere Blutspiegel bewirken als das Pepsin- bzw. auch das Plasmin-Präparat (Tab. 8). Diese Tendenz läßt sich im Blut

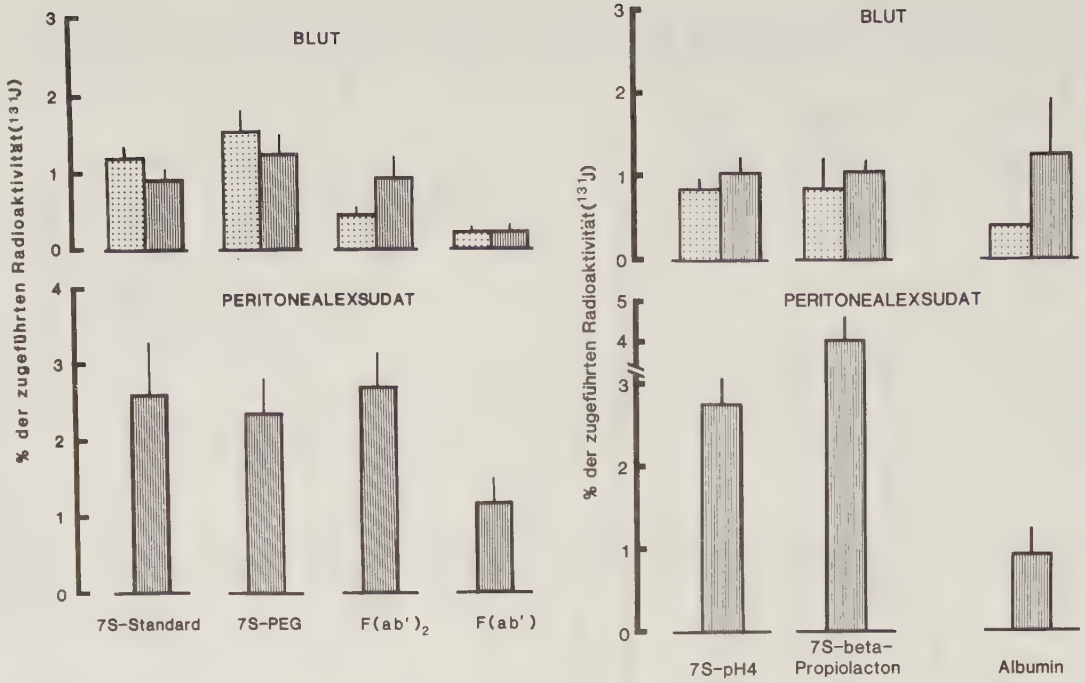


Abb. 14:
Verteilungsmuster von Immunglobulinpräparaten und Humanalbumin im Blut und im Peritonealexsudat bei gesunden Tieren (1. Säule) und bei Tieren mit Peritonitis (2. Säule).
Aus dem Bauchsitus gesunder Tiere ließ sich kein Peritonealexsudat gewinnen.

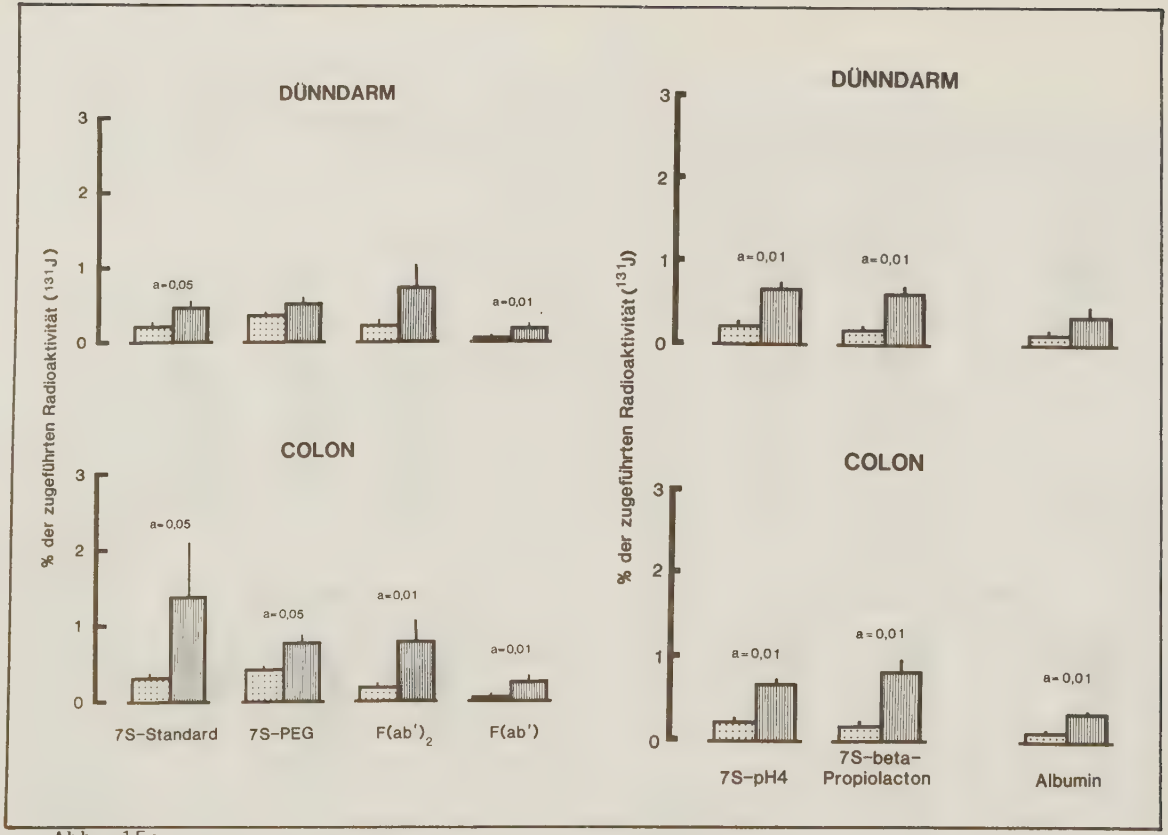


Abb. 15:
Verteilungsmuster von Immunglobulinpräparaten und Humanalbumin im Dünndarm und im Colon bei gesunden Tieren (1. Säule) und bei Tieren mit Peritonitis (2. Säule).

von Tieren mit Peritonitis nicht in gleichem Maße feststellen. Zwischen den ungespaltenen 7S-Präparaten und dem Pepsin-verdauten Gammaglobulin gibt es im Blut infizierter Tiere keine signifikanten Verteilungsunterschiede (Tab. 9). Es zeigt sich allerdings, daß auch hier das Plasmin-behandelte Präparat niedrigere Blutspiegel aufweist als alle anderen Gammaglobulinpräparate (Abb. 14). Damit konnte gezeigt werden, daß zwischen den ungespaltenen Präparaten einerseits und den gespaltenen Immunglobulinen andererseits Unterschiede in den Konzentrationen im Blut nachweisbar sind. Die gespaltenen Gammaglobuline - hier vor allem das Plasmin-gespaltene Präparat - erscheinen im Blut insgesamt schwächer konzentriert als die ungespaltenen 7S-Präparate. Im Vergleich mit Albumin sind einige ungespaltene Präparate (7S-Standard, 7S-pH4) im Blut von Ratten ohne Peritonitis im Gegensatz zu den Verhältnissen im Blut infizierter Ratten eher höher konzentriert als gespaltene Gammaglobuline (Tab. 10, 11).

Aus dem Bauchsitus gesunder Tiere ließ sich kein Exsudat gewinnen. Somit ist nach den gewählten Bedingungen kein Gammaglobulin nachweisbar. Das Peritonealexsudat infizierter Tiere weist dagegen für alle Gammaglobuline Aktivität in einer Höhe zwischen 1,2% und 4,19% der zugeführten Radioaktivität auf (Abb. 14, Tab. 12 - 17). Der niedrigste Wert wurde nach Applikation des Plasmin-gespaltenen Präparats beobachtet.

Ein wichtiger Punkt ist weiter die Anreicherung der Gammaglobuline am Ort der Infektion. Es zeigte sich, daß alle Gammaglobuline bei Tieren mit einer Peritonitis eine signifikant höhere Anreicherung im Colon, wo die Verletzung gesetzt wurde, aufweisen als bei Tieren ohne Infektion (Abb. 15). Bewegen sich die Werte bei gesunden Tieren zwischen 0,07% (Plasmin-GG) und 0,47% (7S-PEG-GG), so weist das Colon infizierter Ratten Werte von 0,31% (Plasmin-GG) bis 1,42% (7S-Standard-GG) auf Tab. 12 - 17). Die Verteilungsunterschiede im Dünndarm und im Magen zwischen Tieren mit und ohne Infektion stellen sich weniger homogen dar. Nicht alle markierten Gammaglobuline zeigten in diesen beiden Organen eine deutlich höhere Aktivität als bei gesunden Tieren. Eine signifikant stärkere Speicherung im Dünndarm infizierter Tiere gegenüber gesunden Tieren findet sich mit Werten von 0,47% gegenüber 0,23% für das 7S-Standard-GG, von 0,57% gegenüber 0,24% für das 7S-pH4-GG, von 0,64% gegenüber 0,19% für das 7S-ß-Propiolacton und von 0,22% gegenüber 0,07% für das Plasmin-GG. Eine ähnlich signifikant stärkere Anreicherung im Magen infizierter Tiere zeigt sich beim 7S-ph4-GG mit 0,60% gegenüber 0,28%, beim 7S-ß-Propiolacton-GG mit 0,47% gegenüber 0,26% und beim Plasmin-GG mit 0,39% gegenüber 0,11% (Abb. 15, 16, Tab. 12, 15, 16, 17). Die Steigerung der Anreicherungswerte des Pepsin-GG im Dünndarm und im Magen infizierter Tiere gegenüber nicht infizierten Tieren fällt also deutlich geringer aus als bei einigen ungespaltenen Gammaglobulinen und dem Plasmin-GG. Dieses allerdings weist ebenso wie

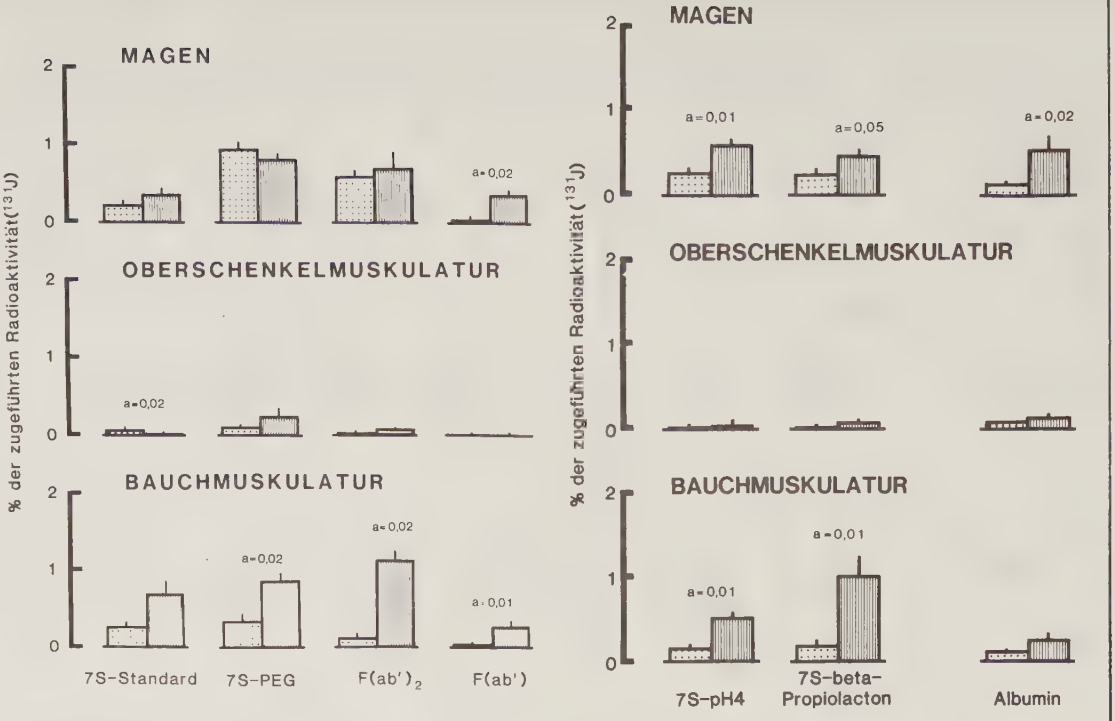


Abb. 16:
Verteilungsmuster von Immunglobulinpräparaten und Humanalbumin im Magen, in der Oberschenkel- und Bauchmuskulatur bei gesunden Tieren (1. Säule) und bei Tieren mit Peritonitis (2. Säule).

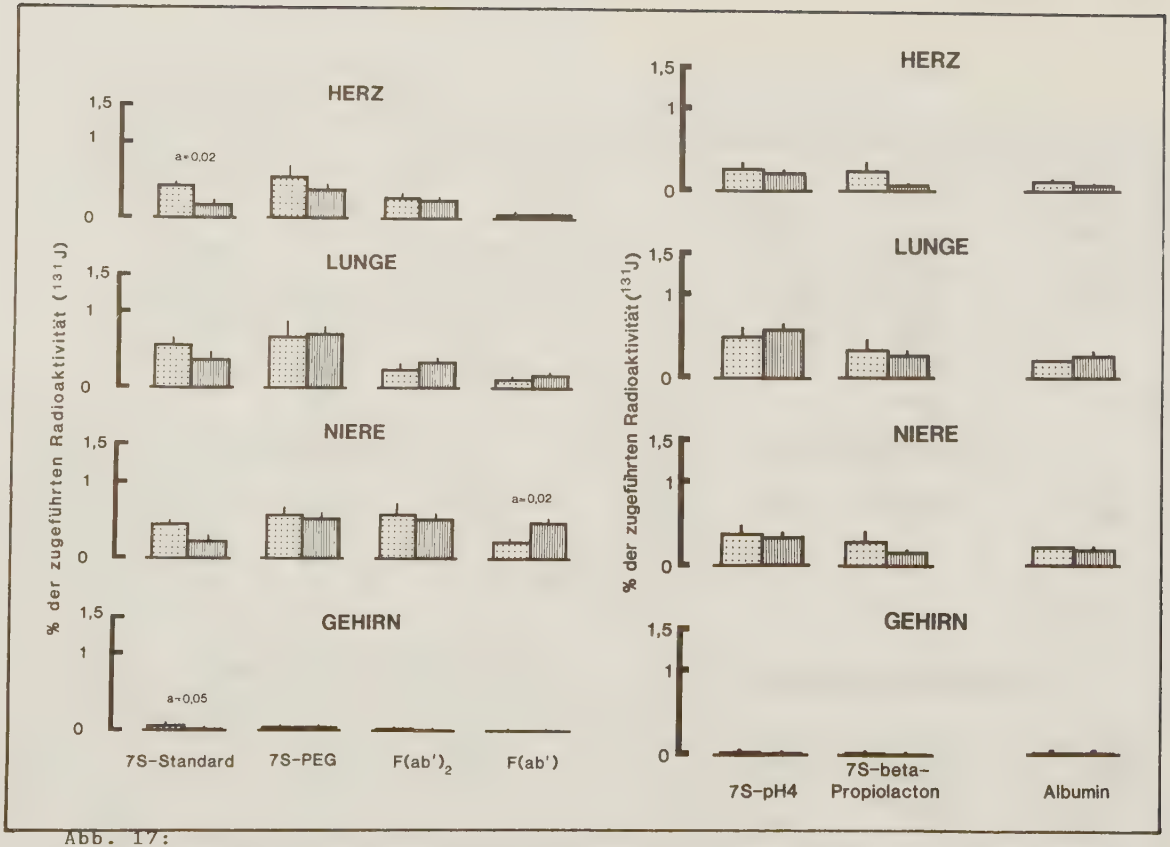


Abb. 17:
Verteilungsmuster von Immunglobulinpräparaten und Humanalbumin in Herz, Lunge, Niere und Gehirn bei gesunden Tieren (1. Säule) und bei Tieren mit Peritonitis (2. Säule).

das 7S-pH4-GG und das 7S-ß-Propiolacton-GG für alle drei untersuchten Intestinalorgane Magen, Dünndarm und Colon signifikante bis hochsignifikante Verteilungsunterschiede infizierter Tiere gegenüber nicht infizierten Tieren auf (Abb. 15, 16, Tab. 15, 16, 17). Es muß an dieser Stelle erwähnt werden, daß auch das Humanalbumin im Colon und im Magen infizierter Tiere stärker gespeichert wird als in diesen Organen gesunder Tiere (Abb. 15, 16). Die Verteilungswerte im Colon, Dünndarm und Magen zwischen dem Pepsin-GG einerseits und den ungespaltenen Immunglobulinen andererseits ergeben im allgemeinen weder bei infizierten noch bei gesunden Ratten Unterschiede zugunsten der 7S-Präparate. Einzige Ausnahme bildet das 7S-PEG-GG, das im Magen und im Colon von Tieren ohne Peritonitis höhere Radioaktivitätswerte aufweist (Tab. 8, Tab. 9). Aus Tab.10 ist ersichtlich, daß im Magen gesunder Tiere alle ungespaltenen Präparate mit Ausnahme des 7S-ß-Propiolacton-GG und das Pepsin-GG in größerem Umfang zu finden sind als das Humanalbumin. Im Dünndarm gesunder Tiere gilt dies nur für das 7S-PEG-GG und im Colon gesunder Tiere für das 7S-Standard-GG sowie für das 7S-PEG-GG. Das Plasmin-gespaltene Präparat zeigt im Magen und im Colon nicht infizierter Tiere eine ähnliche und im Dünndarm sogar eine geringere Verteilung als das Humanalbumin. Insgesamt reichert sich das Plasmin-GG in den Intestinalorganen schlechter an als alle anderen Gammaglobuline (Abb. 15, 16). Ein Vergleich mit dem Humanalbumin zeigt weiter, daß sich im Gegensatz zu dem Pepsin-GG zwei 7S-Präparate (7S-Standard-GG, 7S-PEG-GG) in zwei bzw.

allen drei der untersuchten Verdauungsorgane gesunder Tiere besser verteilen als das Humanalbumin (Tab. 10). Bei Tieren mit Peritonitis zeigen mit Ausnahme des 7S-Standard-GG und des Plasmin-GG alle Präparate im Colon höhere Radioaktivitätsanteile als das Humanalbumin. Für Dünndarm und Magen infizierter Tiere gibt es gegenüber dem Humanalbumin keine vergleichbaren Unterschiede (Tab. 10, 11).

In der Bauchmuskulatur infizierter Tiere lassen sich im Bereich der Abdominalwunde für alle Gammaglobulinpräparate auffällige Radioaktivitätsanreicherungen im Gegensatz zu gesunden Tieren feststellen (Abb. 16). Bei gesunden Tieren schwanken die Werte zwischen 0,06% (Plasmin-GG) und 0,35% (7S-PEG-GG), bei Tieren mit einer Peritonitis zwischen 0,28% (Plasmin-GG) und 1,14% (Pepsin-GG) (Tab. 12 - 17). Die ungespaltenen Präparate zeigen hier weder in der Gruppe der gesunden noch in der von Tieren mit einer Peritonitis höhere Gewebespiegel als das Pepsin-gespaltene Gammaglobulin (Tab.8, 9), allerdings zeigt das Plasmin-verdaute Immunglobulinpräparat neben dem Humanalbumin wiederum den niedrigsten Wert (Abb. 16). Ein Vergleich der Verteilung aller Gammaglobuline mit dem Humanalbumin zeigt bei Tieren ohne Peritonitis eine höhere Anreicherung des Standard-GG gegenüber dem Humanalbumin und dem Plasmin-Präparat als sie die anderen ungespaltenen Gammaglobuline und auch das Pepsin-Präparat aufweisen (Tab. 10). Bei Tieren mit einer Peritonitis verteilen sich alle ungespaltenen Gammaglobuline mit

Ausnahme des 7S-Standard-GG sowie das Pepsin-gespaltene Präparat besser als das Humanalbumin. Das Plasmin-Präparat zeigt hier gegenüber dem Humanalbumin keinen derartigen Unterschied (Tab. 11).

In der Oberschenkelmuskulatur, die als Vergleichsgewebe ohne spezifische Speicherung von Gammaglobulin gelten kann, findet sich für kein Präparat, weder bei gesunden noch bei infizierten Ratten, eine nennenswerte Anreicherung (Abb. 16).

Herz, Lunge, Niere, Gehirn, Milz, Lymphknoten und Leber infizierter Tiere zeigen mit wenigen Ausnahmen keine höheren Gammaglobulinanteile als diese Organe gesunder Tiere (Abb. 17, 18, 19). Mit Ausnahme des 7S-Standard-Präparats bei Tieren ohne Peritonitis und des 7S-PEG-Gammaglobulins bei Ratten mit Peritonitis, die sich beide in einigen dieser Organe relativ gut anreichern, lassen sich hier keine größeren Abweichungen zwischen dem Pepsin-Präparat und den ungespaltenen Immunglobulinen feststellen (Tab. 8, 9). Das Plasmin-gespaltene Präparat verteilt sich auch in diesen Organen - am ausgeprägtesten bei Tieren ohne Peritonitis - schwach bzw. schlechter als alle anderen Präparate (Tab. 10, 11).

Betrachtet man die Ausscheidung der Gammaglobuline im Urin, so läßt sich trotz der hohen individuellen Unterschiede - die hohen Standardabweichungen lassen eindeutige Aussagen nicht

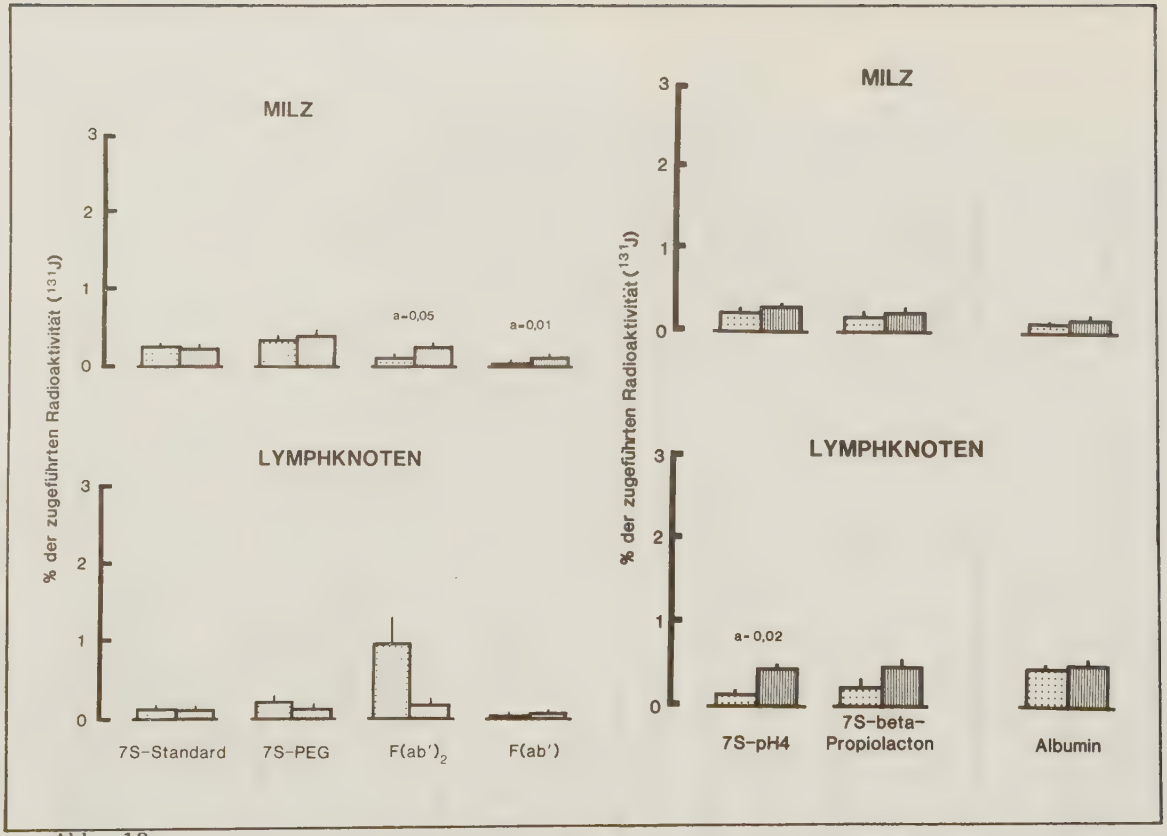


Abb. 18:
Verteilungsmuster von Immunglobulinpräparaten und Humanalbumin in Milz und Lymphknoten bei gesunden Tieren (1. Säule) und bei Tieren mit Peritonitis (2. Säule).

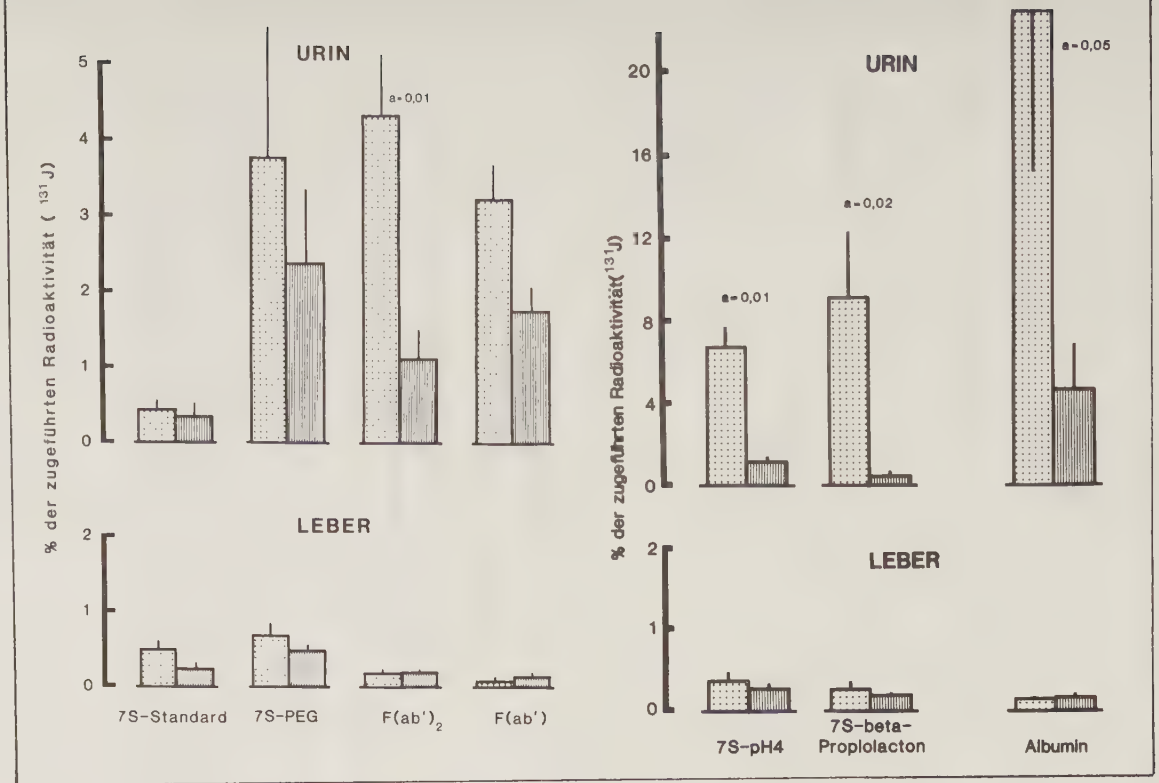


Abb. 19:
Verteilungsmuster von Immunglobulinpräparaten und Humanalbumin im Urin und in der Leber bei gesunden Tieren (1. Säule) und bei Tieren mit Peritonitis (2.Säule).

zu - eine Tendenz zu einer geringeren Radioaktivitätsausscheidung sowohl für ungespaltene als auch für gespaltene Immunglobuline bei Tieren mit einer Peritonitis feststellen (Abb. 19). Die Werte schwanken für Tiere ohne Infektion zwischen 0,47% (7S-Standard-GG) und 9,22% (7S-ß-Propiolacton-GG) und für Tiere mit Peritonitis zwischen 0,37% (7S-Standard-GG) und 2,42% (7S-PEG-GG) (Tab. 12 - 17). 16 - 20 Stunden nach Setzen der Infektion gab es weder in der Gruppe der infizierten Tiere noch in der Gruppe der Ratten ohne Peritonitis mit Ausnahme des 7S-Standard-GG Ausscheidungsunterschiede im Urin zwischen den ungespaltenen Präparaten und dem Pepsin-GG. Das 7S-Standard-GG bzw. seine markierten Bruchstücke waren allerdings im Urin gesunder wie infizierter Tiere in erheblich geringerem Maße als das Pepsin-GG zu finden (Tab. 8, 9). In der Gruppe der Ratten ohne Peritonitis wird an das Humanalbumin gebundene Aktivität in sehr viel größerem Umfang ausgeschieden, als dies bei ungespaltenen und gespaltenen Präparaten der Fall ist (Tab. 10). Der Wert im Urin gesunder Tiere beträgt für das Humanalbumin 21,96% der zugeführten Radioaktivität. Diese hohe Ausscheidungsrate geht jedoch bei Tieren mit Peritonitis auf einen Wert von 4,66% zurück, so daß ein weitgehender Ausgleich der Ausscheidungsunterschiede festzustellen ist, auch wenn die an das 7S-ß-Propiolacton- und das 7S-Standard-GG gebundene Aktivität in deutlich geringerem Maße als beim Humanalbumin von infizierten Tieren ausgeschieden wird (Tab. 11).

	7S-Standard	7S-PEG	7S-pH4	7S-ß-Propiolacton
Blut	++++	++++	++	-
Milz	+++	-	-	-
Leber	++	-	-	-
Lunge	++	-	-	-
Herz	+++	-	-	-
Gehirn	-	-	-	-
Magen	(+++)	+	(+++)	(+++)
Dünndarm	-	-	-	-
Colon	-	++	-	-
Bauchmuskulatur	-	-	-	-
Oberschenkelmuskulatur	-	-	-	-
Lymphknoten	-	-	-	-
Niere	-	-	-	-
Urin	(+)	-	+	-

-: kein Verteilungsunterschied

+: $\alpha = 0{,}05$

++: $\alpha = 0{,}02$

+++: $\alpha = 0{,}01$

++++: $\alpha = 0{,}002$

Tab. 8:
Irrtumswahrscheinlichkeiten für eine bessere Verteilung der verschiedenen 7S-Präparate gegenüber dem Pepsin-verdauten Gammaglobulin innerhalb der einzelnen Organe bzw. Flüssigkeiten in Ratten ohne Peritonitis.
In Klammern Werte für eine bessere Verteilung des Pepsin-Präparats.

	7S-PEG	7S-pH4	7S-ß-Propiolacton	7S-Standard
Peritoneal-exsudat	-	-	+	-
Blut	-	-	-	-
Milz	-	-	-	-
Leber	++	-	-	-
Lunge	++	+	-	-
Herz	++	-	-	-
Gehirn	++	-	-	-
Magen	-	-	-	-
Dünndarm	-	-	-	-
Colon	-	-	-	-
Bauchmus-kulatur	-	(++)	-	-
Oberschenkel-muskulatur	-	-	-	-
Lymphknoten	-	-	-	-
Niere	-	-	(+++)	-
Urin	-	-	-	(+)

-: kein Verteilungsunterschied

+: $\alpha = 0{,}05$

++: $\alpha = 0{,}02$

+++: $\alpha = 0{,}01$

Tab. 9:
Irrtumswahrscheinlichkeiten für eine bessere Verteilung der verschiedenen 7S-Präparate gegenüber dem Pepsin-verdauten Gammaglobulin innerhalb der einzelnen Organe bzw. Flüssigkeiten in Ratten mit Peritonitis.
In Klammern Werte für eine bessere Verteilung des Pepsin-Präparats.

	7S-Standard	7S-PEG	7S-pH4	$F(ab')_2$
Blut	+++	-	+	-
Milz	+++	-	-	-
Leber	+++	-	-	-
Lunge	+++	-	-	-
Herz	+++	-	-	-
Gehirn	+	-	-	-
Magen	+++	+++	+++	+++
Dünndarm	-	++	-	-
Colon	+++	++	-	-
Bauchmuskulatur	++	-	-	-
Oberschenkelmuskulatur	-	-	-	-
Lymphknoten	(+++)	-	(+++)	-
Niere	+++	-	+++	-
Urin	(+)	(++)	(++)	(+++)

-: kein Verteilungsunterschied

+: $\alpha = 0{,}05$

++: $\alpha = 0{,}02$

+++: $\alpha = 0{,}01$

Tab. 10:
Irrtumswahrscheinlichkeiten für eine bessere Verteilung der verschiedenen Gammaglobulinpräparate gegenüber dem Humanalbumin innerhalb der einzelnen Organe bzw. Flüssigkeiten in Ratten ohne Peritonitis.
In Klammern Werte für eine bessere Verteilung des Humanalbumins.

	7S-ß-Propiolacton	Albumin	Fab
Blut	-		(+++)
Milz	-		(+++)
Leber	-		-
Lunge	-		(+++)
Herz	-		(+++)
Gehirn	-		(+++)
Magen	-		-
Dünndarm	-		(++)
Colon	-		-
Bauchmuskulatur	-		(+++)
Oberschenkelmuskulatur	-		(+++)
Lymphknoten	-		(+++)
Niere	-		(+++)
Urin	-		(+)

-: kein Verteilungsunterschied

+: α = 0,05

++: α = 0,02

+++: α = 0,01

Fortsetzung Tab. 10

	7S-PEG	7S-pH4	$F(ab')_2$	7S-ß-Propiolacton
Peritoneal-exsudat	–	++	+	++
Blut	–	–	–	–
Milz	++	+	+	–
Leber	++	+	–	–
Lunge	++	+	–	–
Herz	++	+++	–	–
Gehirn	+	–	–	–
Magen	–	–	–	–
Dünndarm	–	–	–	–
Colon	++	+++	+++	+++
Bauchmus-kulatur	++	+	++	+
Oberschenkel-muskulatur	–	–	+	–
Lymphknoten	(++)	–	–	–
Niere	++	–	+	–
Urin	–	–	–	(+)

–: kein Verteilungsunterschied

+: $\alpha = 0{,}05$

++: $\alpha = 0{,}02$

+++: $\alpha = 0{,}01$

Tab. 11:
Irrtumswahrscheinlichkeiten für eine bessere Verteilung der verschiedenen Gammaglobulinpräparate gegenüber dem Humanalbumin innerhalb der einzelnen Organe bzw. Flüssigkeiten in Ratten mit Peritonitis.
In Klammern Werte für eine bessere Verteilung des Humanalbumins.

	7S-Standard	Albumin	Fab
Peritoneal-exsudat	-		-
Blut	-		-
Milz	-		-
Leber	-		-
Lunge	-		-
Herz	-		-
Gehirn	-		(++)
Magen	-		-
Dünndarm	-		-
Colon	-		-
Bauchmus-kulatur	-		-
Oberschenkel-muskulatur	(+++)		(++)
Lymphknoten	(+++)		(+++)
Niere	-		-
Urin	(+)		-

-: kein Verteilungsunterschied

+: $\alpha = 0{,}05$

++: $\alpha = 0{,}02$

+++: $\alpha = 0{,}01$

Fortsetzung Tab. 11

	ohne Peritonitis $\bar{x}$	ohne Peritonitis $s\bar{x}$	mit Peritonitis $\bar{x}$	mit Peritonitis $s\bar{x}$	Irrtumswahrscheinlichkeit für die Differenz
Blut	1,27	0,11	0,95	0,14	-
Peritonealexsudat			2,63	0,70	
Milz	0,29	0,02	0,26	0,06	-
Leber	0,52	0,10	0,26	0,07	-
Lunge	0,59	0,07	0,39	0,10	-
Herz	0,44	0,05	0,20	0,07	(++)
Gehirn	0,07	0,01	0,03	0,01	(+)
Magen	0,26	0,03	0,37	0,07	-
Dünndarm	0,23	0,04	0,47	0,010	+
Colon	0,34	0,05	1,42	0,68	+
Bauchmuskulatur	0,32	0,07	0,72	0,16	-
Oberschenkelmuskulatur	0.08	0,01	0,02	0,008	(++)
Lymphknoten	0,17	0,03	0,15	0,04	-
Niere	0,44	0,04	0,25	0,07	-
Urin	0,47	0,12	0,37	0,18	-

$\bar{x}$: Mittelwerte der Verteilungen aus den Organen von jeweils fünf Tieren

$s\bar{x}$: Mittlerer Fehler des Mittelwerts

+: α - 0,05

++: α = 0,02

+++: α - 0,01

Tab. 12:
Radioaktivitätsanteil in % der zugeführten Aktivität für das 7S-Standard-GG pro Gramm Organ bzw. Flüssigkeit bei je fünf Ratten ohne und mit Peritonitis.

	ohne Peritonitis $\bar{x}$	ohne Peritonitis $\overline{sx}$	mit Peritonitis $\bar{x}$	mit Peritonitis $\overline{sx}$	Irrtumswahrscheinlichkeit für die Differenz
Blut	1,57	0,29	1,27	0,24	-
Peritonealexsudat			2,38	0,46	
Milz	0,38	0,08	0,44	0,05	-
Leber	0,71	0,17	0,53	0,04	-
Lunge	0,71	0,20	0,75	0,09	-
Herz	0,60	0,13	0,43	0,08	-
Gehirn	0,07	0,02	0,07	0,005	-
Magen	0,96	0,09	0,84	0,06	-
Dünndarm	0,39	0,03	0,56	0,08	-
Colon	0,47	0,02	0,81	0,09	+
Bauchmuskulatur	0,35	0,08	0,89	0,07	++
Oberschenkelmuskulatur	0,12	0,02	0,26	0,10	-
Lymphknoten	0,24	0,07	0,16	0,05	-
Niere	0,57	0,11	0,57	0,05	-
Urin	3,81	1,75	2,42	1,05	-

$\bar{x}$: Mittelwerte der Verteilungen aus den Organen von jeweils fünf Tieren

$\overline{sx}$: Mittlerer Fehler des Mittelwerts

+: $\alpha = 0,05$

++: $\alpha = 0,02$

+++: $\alpha = 0,01$

Tab. 13:
Radioaktivitätsanteil in % der zugeführten Aktivität für das 7S-PEG-GG pro Gramm Organ bzw. Flüssigkeit bei je fünf Ratten ohne und mit Peritonitis.

	ohne Peritonitis $\bar{x}$	ohne Peritonitis $\overline{sx}$	mit Peritonitis $\bar{x}$	mit Peritonitis $\overline{sx}$	Irrtumswahrscheinlichkeit für die Differenz
Blut	0,47	0,09	0,95	0,28	-
Peritonealexsudat			2,73	0,45	
Milz	0,17	0,03	0,28	0,03	+
Leber	0,21	0,05	0,23	0,01	-
Lunge	0,28	0,06	0,36	0,04	-
Herz	0,18	0,04	0,15	0,03	-
Gehirn	0,04	0,01	0,02	0,002	-
Magen	0,63	0,08	0,70	0,02	-
Dünndarm	0,28	0,05	0,76	0,30	-
Colon	0,21	0,04	0,84	0,26	+++
Bauchmuskulatur	0,16	0,04	1,14	0,13	++
Oberschenkelmuskulatur	0,06	0,02	0,09	0,004	-
Lymphknoten	0,98	0,36	0,22	0,08	-
Niere	0,61	0,15	0,55	0,09	-
Urin	5,52	0,80	1,14	0,27	+++

$\bar{x}$: Mittelwerte der Verteilungen aus den Organen von jeweils fünf Tieren

$\overline{sx}$: Mittlerer Fehler des Mittelwerts

+: $\alpha = 0{,}05$

++: $\alpha = 0{,}02$

+++: $\alpha = 0{,}01$

Tab. 14:
Radioaktivitätsanteil in % der zugeführten Aktivität für das $F(ab')_2$-GG pro Gramm Organ bzw. Flüssigkeit bei je fünf Ratten ohne und mit Peritonitis.

	ohne Peritonitis $\bar{x}$	ohne Peritonitis $\overline{sx}$	mit Peritonitis $\bar{x}$	mit Peritonitis $\overline{sx}$	Irrtumswahrscheinlichkeit für die Differenz
Blut	0,24	0,04	0,24	0,06	-
Peritonealexsudat			1,20	0,21	
Milz	0,06	0,01	0,15	0,03	+++
Leber	0,11	0,01	0,14	0,01	-
Lunge	0,14	0,02	0,19	0,01	-
Herz	0,08	0,01	0,09	0,01	-
Gehirn	0,01	0,002	0,01	0,001	-
Magen	0,11	0,02	0,39	0,05	+++
Dünndarm	0,07	0,01	0,22	0,05	+++
Colon	0,07	0,01	0,31	0,06	+++
Bauchmuskulatur	0,06	0,01	0,28	0,06	+++
Oberschenkelmuskulatur	0.01	0,004	0,03	0,01	-
Lymphknoten	0,06	0,01	0,11	0,02	-
Niere	0,13	0,02	0,25	0,03	++
Urin	3,24	0,50	1,79	0,32	-

$\bar{x}$: Mittelwerte der Verteilungen aus den Organen von jeweils fünf Tieren

$\overline{sx}$: Mittlerer Fehler des Mittelwerts

+: $\alpha = 0,05$

++: $\alpha = 0,02$

+++: $\alpha = 0,01$

Tab. 15:
Radioaktivitätsanteil in % der zugeführten Aktivität für das Fab-GG pro Gramm Organ bzw. Flüssigkeit bei je fünf Ratten ohne und mit Peritonitis.

	ohne Peritonitis $\bar{x}$	ohne Peritonitis $\overline{sx}$	mit Peritonitis $\bar{x}$	mit Peritonitis $\overline{sx}$	Irrtumswahrscheinlichkeit für die Differenz
Blut	0,88	± 0,11	1,07	± 0,25	-
Peritonealexsudat			2,78	± 0,31	
Milz	0,25	± 0,06	0,32	± 0,03	-
Leber	0,37	± 0,09	0,30	± 0,04	-
Lunge	0,51	± 0,12	0,60	± 0,08	-
Herz	0,28	± 0,07	0,23	± 0,03	-
Gehirn	0,04	± 0,01	0,03	± 0,004	-
Magen	0,28	± 0,03	0,60	± 0,06	+++
Dünndarm	0,24	± 0,05	0,57	± 0,06	+++
Colon	0,25	± 0,05	0,70	± 0,04	+++
Bauchmuskulatur	0,17	± 0,05	0,54	± 0,06	+++
Oberschenkelmuskulatur	0,05	± 0,01	0,07	± 0,02	-
Lymphknoten	0,16	± 0,04	0,46	± 0,05	++
Niere	0,41	± 0,09	0,36	± 0,04	-
Urin	6,84	± 0,93	1,22	± 0,27	+++

$\bar{x}$: Mittelwerte der Verteilungen aus den Organen von jeweils fünf Tieren

$\overline{sx}$: Mittlerer Fehler des Mittelwerts

+: $\alpha = 0,05$

++: $\alpha = 0,02$

+++: $\alpha = 0,01$

Tab. 16:
Radioaktivitätsanteil in % der zugeführten Aktivität für das 7S-pH4-GG pro Gramm Organ bzw. Flüssigkeit bei je fünf Ratten ohne und mit Peritonitis.

	ohne Peritonitis $\bar{x}$	ohne Peritonitis $\overline{sx}$	mit Peritonitis $\bar{x}$	mit Peritonitis $\overline{sx}$	Irrtumswahrscheinlichkeit für die Differenz
Blut	0,87	0,34	1,08	0,10	-
Peritonealexsudat			4,19	0,57	
Milz	0,20	0,08	0,26	0,05	-
Leber	0,28	0,11	0,19	0,03	-
Lunge	0,35	0,13	0,29	0,05	-
Herz	0,28	0,11	0,10	0,02	-
Gehirn	0,03	0,01	0,02	0,004	-
Magen	0,26	0,05	0,47	0,07	+
Dünndarm	0,19	0,06	0,64	0,07	+++
Colon	0,21	0,06	0,84	0,14	+++
Bauchmuskulatur	0,21	0,08	1,04	0,19	+++
Oberschenkelmuskulatur	0,05	0,02	0,10	0,03	-
Lymphknoten	0,24	0,09	0,49	0,08	-
Niere	0,31	0,11	0,17	0,03	-
Urin	9,22	3,17	0,50	0,27	++

$\bar{x}$: Mittelwerte der Verteilungen aus den Organen von jeweils fünf Tieren

$\overline{sx}$: Mittlerer Fehler des Mittelwerts

+: $\alpha = 0,05$

++: $\alpha = 0,02$

+++: $\alpha = 0,01$

Tab. 17:
Radioaktivitätsanteil in % der zugeführten Aktivität für das 7S-ß-Propiolacton-GG pro Gramm Organ bzw. Flüssigkeit bei je fünf Ratten ohne und mit Peritonitis.

	ohne Peritonitis $\bar{x}$	ohne Peritonitis $s\bar{x}$	mit Peritonitis $\bar{x}$	mit Peritonitis $s\bar{x}$	Irrtumswahrscheinlichkeit für die Differenz
Blut	0,45	± 0,03	1,28	± 0,68	-
Peritoneal-exsudat			0,96	± 0,32	
Milz	0,13	± 0,01	0,17	± 0,04	-
Leber	0,15	± 0,02	0,17	± 0,04	-
Lunge	0,23	± 0,01	0,28	± 0,08	-
Herz	0,15	± 0,01	0,10	± 0,01	-
Gehirn	0,03	± 0,005	0,03	± 0,004	-
Magen	0,15	± 0,01	0,56	± 0,13	++
Dünndarm	0,16	± 0,04	0,36	± 0,10	-
Colon	0,13	± 0,03	0,34	± 0,02	+++
Bauchmus-kulatur	0,14	± 0,02	0,27	± 0,08	-
Oberschenkel-muskulatur	0,11	± 0,04	0,15	± 0,05	-
Lymphknoten	0,47	± 0,04	0,51	± 0,07	-
Niere	0,25	± 0,003	0,21	± 0,04	-
Urin	21,96	± 7,69	4,66	± 2,21	+

$\bar{x}$: Mittelwerte der Verteilungen aus den Organen von jeweils fünf Tieren

$s\bar{x}$: Mittlerer Fehler des Mittelwerts

+: $\alpha = 0,05$

++: $\alpha = 0,02$

+++: $\alpha = 0,01$

Tab. 18:
Radioaktivitätsanteil in % der zugeführten Aktivität für das Humanalbumin pro Gramm Organ bzw. Flüssigkeit bei je fünf Ratten ohne und mit Peritonitis.

6. Degradierung der Gammaglobulinpräparate innerhalb des Organismus.

Mit der chromatographischen Untersuchung von Serum gesunder und infizierter Tiere sowie von Peritonealexsudat von Tieren mit einer Peritonitis sollte festgestellt werden, ob sich die einzelnen Immunglobuline verschiedener Modifikation und Herstellung unter den gewählten Bedingungen in großmolekularer Form nachweisen lassen.

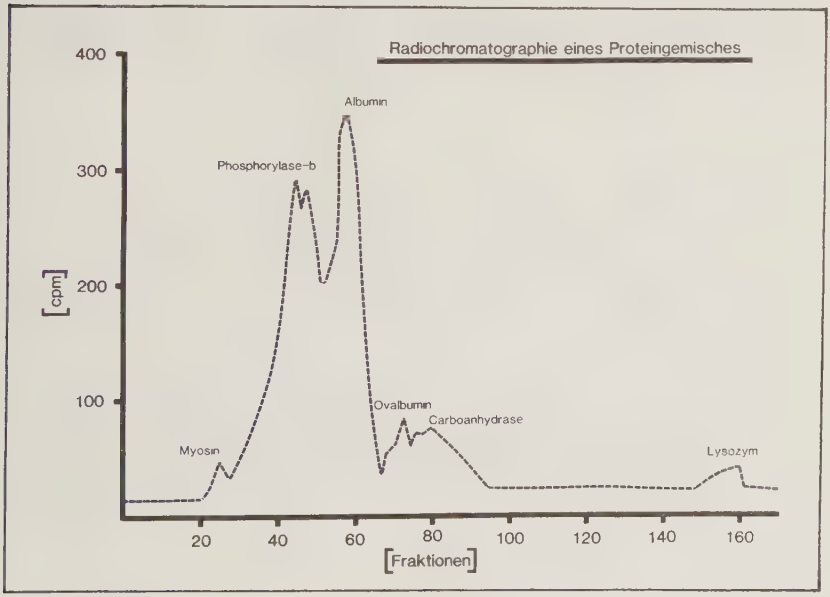
Auf der Ordinate der Abb. 21 - 27 ist der Anteil pro Fraktion des Eluats an der in 1 ml des betreffenden Immunglobulins bzw. des Humanalbumins, des Plasmas gesunder und infizierter Tiere und des Peritonealexsudats enthaltenen proteingebundenen Radioaktivität in % aufgetragen.

Die gewählte Durchlaufgeschwindigkeit und die Größe der Chromatographiesäule erlauben keine exakte quantitative, sondern nur eine qualitative Aussage über eine mögliche Aufspaltung der in den Präparaten enthaltenen Gammaglobulinmoleküle. In erster Linie interessierte die Frage, ob der Organismus innerhalb der ersten 16 - 20 Stunden nach Setzen der Infektion die applizierten Immunglobuline bereits abzubauen beginnt. Das Ausmaß dieses Katabolismus, d.h. die Größe der eventuell entstehenden Spaltprodukte interessierte erst sekundär. Dazu wurde eine Eichkurve aus Proteinen mit einem Molekulargewicht zwischen 14200 (Lysozym) und 200000 (Myosin) unter denselben Bedingungen wie alle

Protein	Molekular-gewicht	Nummer der Chromato-graphiefraktion, die den jeweiligen Peak markiert
Myosin	200000	25
Phosphory-lase-b	92000	45
Albumin	69000	57
Ovalbumin	46000	72
Carboanhydrase	30000	78
Lysozym	14300	159

Tab. 19:
Radiochromatographie eines Proteingemisches aus Proteinen definierten Molekulargewichts (siehe auch Abb. 20).

Abb. 20:



anderen Chromatographien erstellt, um die ungefähren Größenordnungen der Aufspaltung beurteilen zu können (Tab. 19, Abb. 20).

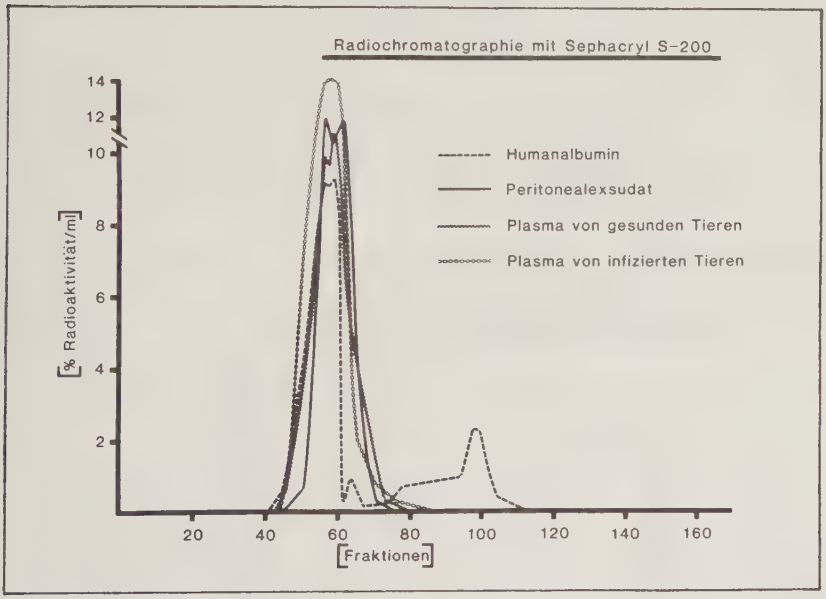
	Präparat	Exsudat	Plasma gesunder Tiere	Plasma infizierter Tiere
7S-Standard-GG	100 (30)	15 (39)	29 (34)	42 (32)
$F(ab')_2$-GG	100 (39)	32 (42)	51 (39)	62 (40)
7S-PEG-GG	100 (35)	26 (39)	31 (37)	28 (38)
Fab-GG	100 (31)	6 (47)	4 (41)	12 (38)
7S-pH4-GG	100 (38)	73 (37)	62 (38)	71 (38)
7S-ß-Propiolacton-GG	100 (36, 37)	31 (38)	37 (39)	34 (38)
Humanalbumin	100 (58)	137(57, 62)	146(58)	156(59)

Tab.20:
Radioaktivitätsanteil (in %) der verschiedenen markierten Immunglobuline und von Humanalbumin im Plasma und im Peritonealexsudat am großmolekularen Peak des jeweiligen Präparats sowie die Nummern der Chromatographiefraktionen, die die Spitzen der großmolekularen Peaks kennzeichnen (in Klammern).

Vergleicht man das Kontrollalbumin (Tab. 20, Abb. 21) mit dem Albumin des Proteingemisches (Tab. 19, Abb. 20), so zeigt sich, daß die Nummern der Chromatographiefraktionen, die die Spitzen der jeweiligen Peaks markieren, recht gut übereinstimmen, d.h. bei Nr. 58 bzw. 57 liegen. Man kann also davon ausgehen, daß man mit Hilfe der Eichkurve die ungefähre Größe des großmolekularen Anteils der Immunglobulinspaltprodukte abzuschätzen vermag. Weiter wurden die Nummern der Chromatographiefraktionen,

die die Spitzen der einzelnen großmolekularen Peaks markieren, aufgelistet. Gleichzeitig wurde der Radioaktivitätsanteil der verschiedenen Immunglobuline und von Humanalbumin im Plasma und im Peritonealexsudat am großmolekularen Peak des jeweiligen Präparats dargestellt (Tab. 20). Dieser prozentuale Anteil errechnete sich aus der Summe der Impulse pro Minute der einzel-

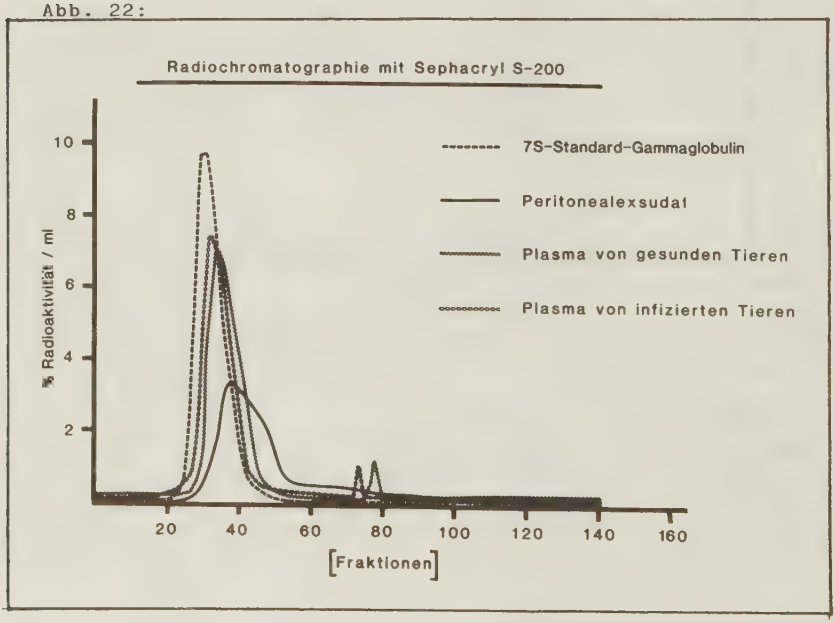
Abb. 21:



nen Fraktionen bis zum Schnittpunkt mit der Kurve des großmolekularen Peaks des untersuchten Präparats, welcher gleich 100 % gesetzt wurde. Dies sei an zwei Beispielen ausführlicher erklärt.

Die großmolekulare Fraktion des 7S-Standard-Gammaglobulins weist im Peritonealexsudat eine Rechtsverschiebung zu kleinermolekularen Bereichen auf (Abb. 22, Tab. 20). Die stärkste Molekulargewichtsverteilung des 7S-Standard-Präparats liegt bei Fraktion 39 im Gegensatz zum großmolekularen Peak des applizierten Präparats, welcher bei Fraktion 30 zu finden ist. Weiter läßt die Tatsache, daß der Radioaktivitätsanteil dieses nicht modifizierten Immunglobulins am großmolekularen Peak des applizierten Standard-Präparats im Exsudat nur 15 % beträgt (Tab. 20), den Schluß einer Aufspaltung dieses Gammaglobulins zu. Man kann also davon ausgehen, daß im Peritonealexsudat weniger als die Hälfte der intakten 7S-Moleküle des Standard-

Abb. 22:



gammaglobulins zu finden ist.

Etwas anders stellt sich die Situation beim 7S-ß-Propiolacton-Gammaglobulin dar. Der Peak dieses Präparats im Peritonealexsudat verschiebt sich nur sehr wenig nach rechts in den kleinermolekularen Bereich hinein (Abb. 23, Tab. 20). Wenn der Anteil der proteingebundenen Radioaktivität am großmolekularen Peak des Immunglobulins im Exsudat ebenfalls relativ gering - näm- 31 % - ist (Tab. 20), so könnte dies zeigen, daß das Gammaglobulin zwar einer Aufspaltung unterliegt, dieser Katabolismus aber nur zu großmolekularen Spaltprodukten mit einer kaum geringeren Molekülgröße als das Ausgangsmolekül führt. Der groß-

Abb. 23:

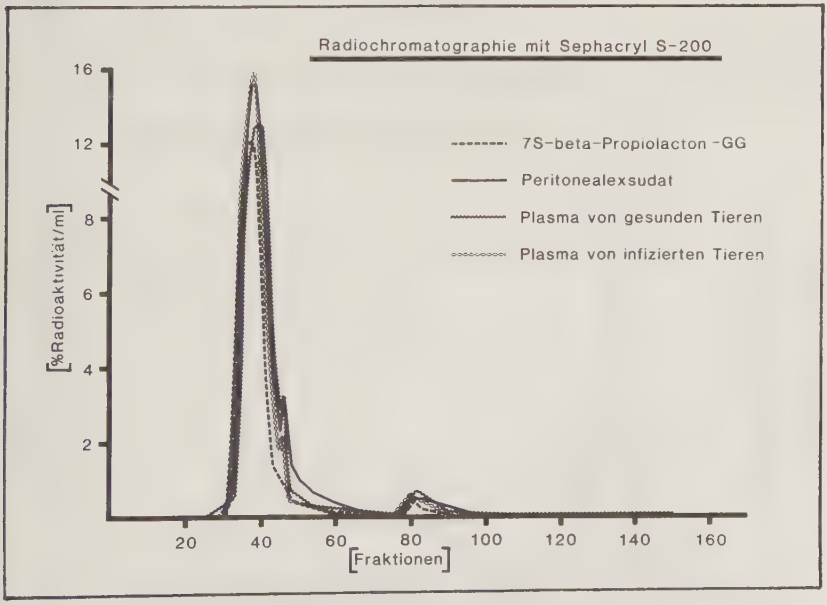


Abb. 24:

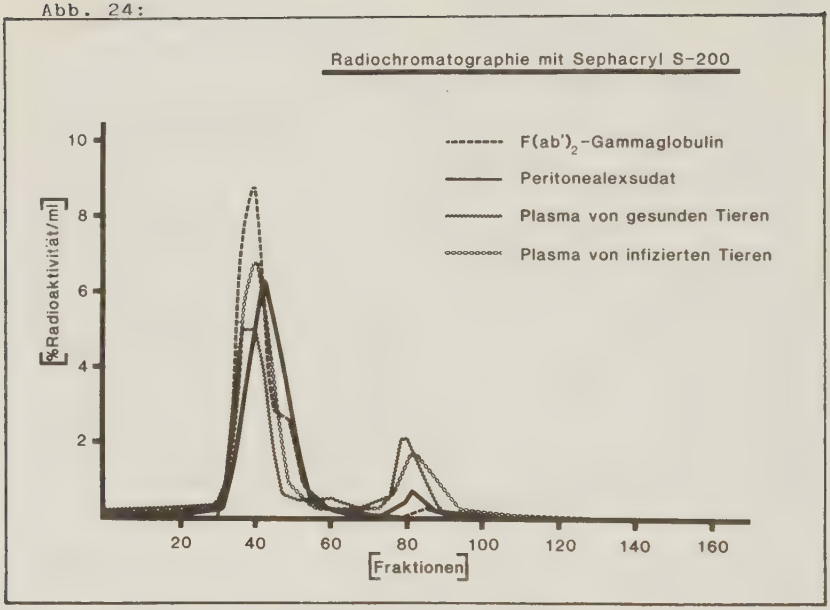
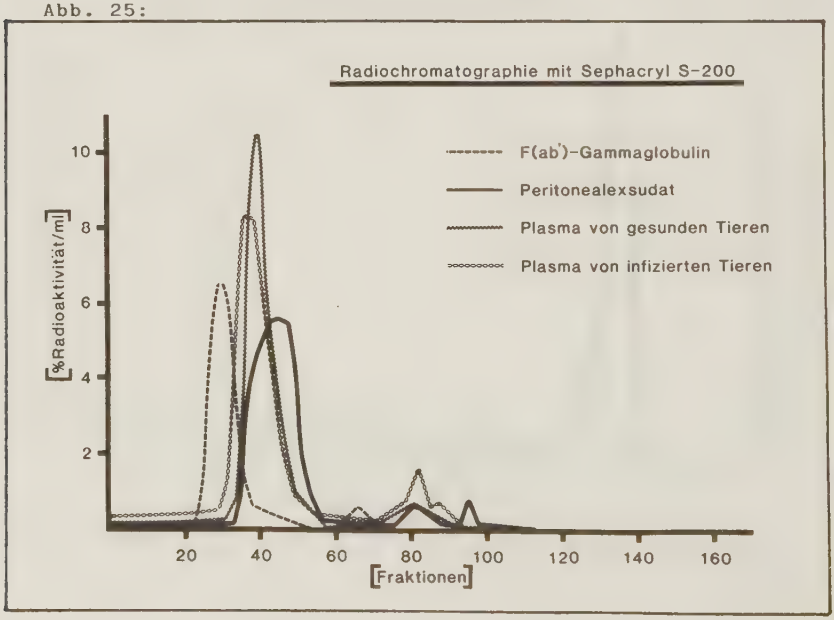

Radiochromatographie mit Sephacryl S-200
F(ab')2-Gammaglobulin
Peritonealexsudat
Plasma von gesunden Tieren
Plasma von infizierten Tieren
[%Radioaktivität/ml]
10
8
6
4
2
20
40
60
80
100
120
140
160
[Fraktionen]

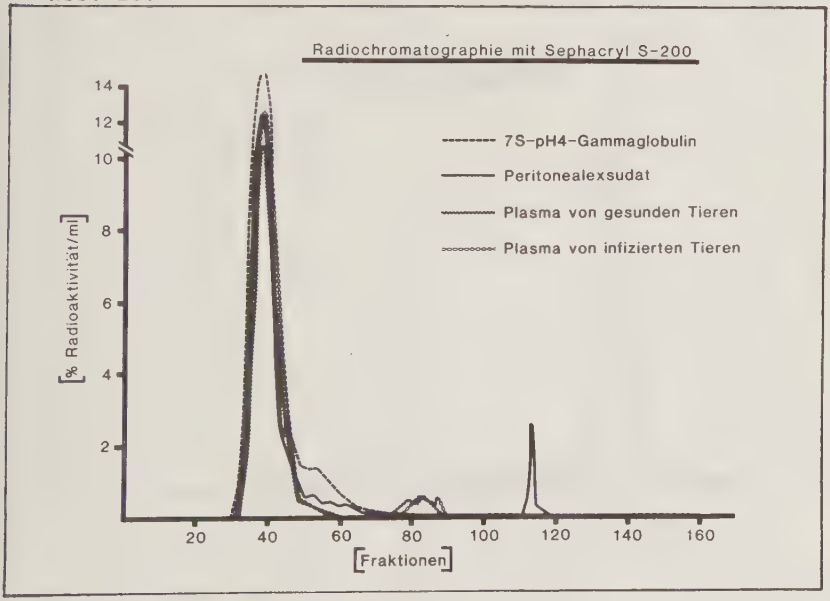
Abb. 25:


Radiochromatographie mit Sephacryl S-200
F(ab')-Gammaglobulin
Peritonealexsudat
Plasma von gesunden Tieren
Plasma von infizierten Tieren
[%Radioaktivität/ml]
10
8
6
4
2
20
40
60
80
100
120
140
160
[Fraktionen]

molekulare Peak des 7S-ß-Propiolacton-Gammaglobulins im Peritonealexsudat verläuft also relativ deckungsgleich mit dem Peak des applizierten Immunglobulinpräparats, was zeigt, daß dieses Präparat in der gewählten Beobachtungszeit von ungefähr 20 Stunden mit am geringsten verändert wird.

Bei einigen Gammaglobulinpräparaten, dem 7S-Standard-, dem Pepsin-, dem Plasmin- und dem 7S-pH4-Gammaglobulin, finden sich im Peritonealexsudat und/oder im Plasma infizierter und nicht infizierter Tiere bei Fraktion 80, d.h. im Bereich eines Molekulargewichtes von ungefähr 30000 (siehe Tab. 19 und Abb. 20) und beim 7S-pH4-Gammaglobulin bei Fraktion 115 im Bereich

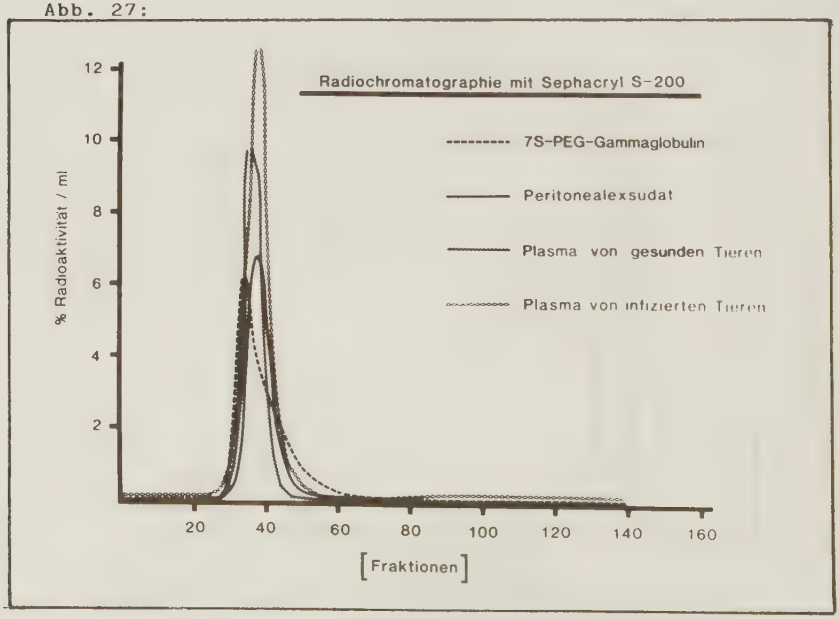
Abb. 26:



eines Molekulargewichtes zwischen 30000 und 14300 Peaks im kleinermolekularen Bereich, wie sie in dieser Form beim jeweiligen Reinpräparat nicht zu finden sind (Abb. 22, 24, 25, 26). Weder im Plasma noch im Peritonealexsudat verschiebt sich der großmolekulare Anteil irgendeines Immunglobulins über Fraktion 47 hinaus (Tab. 20). Der erstellten Eichkurve nach liegt der Peak des Enzyms Phosphorylase-b mit einem Molekulargewicht von 92000 bei Fraktion 45 (Tab. 19, Abb. 20). Demnach dürften bei keinem Immunglobulin die großmolekularen Spaltprodukte ein Molekulargewicht von etwa 90000 unterschreiten.

Die Untersuchung von Serum infizierter und nicht infizierter

Abb. 27:



Ratten ergab, daß 7S-Gammaglobuline und das Pepsin-Präparat innerhalb von 16 - 20 Stunden nach Applikation nur einem geringen Abbau im Blut unterworfen sind. Auch das Humanalbumin zeigt hier keinen Katabolismus in Spaltprodukte. Das Plasmin-gespaltene Gammaglobulin allerdings wird innerhalb dieses Zeitraums in seinem Molekulargewicht stärker verändert (Tab. 19, Abb. 21 - 27). Weiter können einige Gammaglobuline im Peritonealexsudat infizierter Tiere stärker degradiert werden.
Das 7S-ß-Propiolacton-GG und das 7S-pH4-GG (Tab. 20, Abb. 23, Abb. 26) werden nur geringfügig verändert, während das 7S-Standard-GG und das Plasmin-behandelte-GG (Tab. 20, Abb. 25) offensichtlich leichter gespalten werden.

Diskussion und Interpretation der Ergebnisse.

1. Indikationen zur Gammaglobulintherapie.

Gammaglobuline haben heute ihren festen Platz in der Behandlung von Immundefizienzen wie Agammaglobulinämien (6, 11) und Immunsuppressionen nach Zytostatikatherapie, bei Leukosen (11, 66) sowie in Prophylaxe und Therapie verschiedener viraler Krankheitsbilder wie z.B. der Hepatitis A (114), der Masern (11), der Posttransfusionshepatitis (50), von Herpes- und Zostererkrankungen (11, 66). Im Gegensatz zu diesen Standard-Gammaglobulinen, die aus gepooltem Plasma einer großen Menge von Spendern gewonnen werden und die deshalb eine Vielzahl von Antikörpern gegen alle möglichen bakteriellen und viralen Antigene aufweisen, besitzen Hyperimmunseren einen erhöhten spezifischen Titer gegen einen bestimmten Erreger. Solche homologen Gammaglobulinkonzentrate, die entweder aus Blut von Spendern mit einem nachweisbar erhöhten Antikörpertiter gegen den fraglichen Erreger nach durchgemachter - häufig inapparenter - Infektion oder aus Plasma geimpfter Spender hergestellt werden, sind heute zur Prophylaxe bzw. Mitigierung einer Reihe viraler Infektionskrankheiten wie Varizellen, Vakzinia, Röteln, Hepatitis B, Tetanus, Masern, Mumps und Keuchhusten erhältlich, wobei die Indikation für den Einsatz gegen die beiden letzteren Infektionskrankheiten von einigen Autoren noch als fraglich angesehen wird (11, 78).

2. Gammaglobulintherapie von bakteriellen Infektionen im Tierversuch.

Bereits in den 40er Jahren untersuchte man die Schutzwirkung von Gammaglobulinen auch bei bakteriellen Infektionen. CAMERON führte 1947 als einer der ersten Mäuseschutzversuche mit damals noch aus tierischem Plasma gewonnenen Gammaglobulinen durch und wies eine Schutzwirkung bei Infektionen mit Erysipelothrix rhusiopathiae und anderen Keimen nach (18). 1957 griffen FISHER et al. diesen Gedanken auf und zeigten, daß menschliches Standard-Gammaglobulin z.B. mit E. coli, Proteus vulgaris, Streptokokken oder Pseudomonas aeruginosa infizierte Mäuse zu schützen vermag (32, 33). ZIMMERMANN legte 1960 eine Arbeit vor, in der er prinzipiell die bis dahin erstellten Ergebnisse bestätigen konnte und im Mäuseschutzversuch bei Staphylokokken-, Streptokokken- und B. coli-Infektionen eine der Therapie mit verschiedenen Antibiotika ähnliche Wirkung nachweisen konnte (125).BARANDUN sah sich 1964 veranlaßt, aufgrund von Befunden, die an mit Staphylokokken, Pneumokokken, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, B. coli und Aerobacter aerogenes infizierten Mäusen erstellt worden waren, dem Standard-Gammaglobulin eine spezifische antibakterielle Wirkung zuzuschreiben (3). FLURY kam 1965 durch eigene Untersuchungen zum gleichen Schluß und schrieb menschlichem Gammaglobulin eine signifikante Schutzwirkung im Mäuseschutzversuch zu, die er als Ergebnis der Wirkung spezifischer, protektiver Antikörper ansah (34). TATA et al. konnten in einer 1974 veröffentlichten

Arbeit diese Resultate nicht in gleichem Umfang nachvollziehen. Weder ein Pepsin-gespaltenes-, noch ein 7S-ß-Propiolacton-Gammaglobulin waren in der Lage, eine bei Kontrolltieren fulminant verlaufende, letale septische Allgemeininfektion der Maus mit Staphylokokken positiv zu beeinflussen. Allerdings zeigten sie in einem subletal verlaufenden Infektionsexperiment, daß die Vermehrung der Keime in der Milz unter Therapie mit dem 7S-ß-Propiolacton-Gammaglobulin signifikant gehemmt wird (115, 116). Die von RONNEBURGER et al. 1977 durchgeführten Mäuseschutzversuche zeigten, daß in Abhängigkeit von der Infektionsdosis Immunglobuline eine positive Wirkung auf bakterielle Infektionen haben können. Bei massiver Infektion reicht die Menge der applizierten Antikörper gleich welcher Modifikation nicht mehr aus, um eine meßbare Schutzwirkung zu entfalten (82). 1982 legten TRAUTMANN et al. Ergebnisse vor, die bestätigten, daß ein Hyperimmunserum mit einem hohen Agglutinationstiter gegen Pseudomonas aeruginosa eine signifikante Schutzwirkung bei einer Pseudomonassepsis der Maus aufweist, während ein Gammaglobulinpräparat ohne spezifischen Anti-Pseudomonas-Titer keinen gleichartigen Effekt besitzt (117).

Diese kleine Auswahl von Befunden läßt den Schluß zu, daß humane Gammaglobulinpräparate im Tierversuch grundsätzlich eine antibakterielle und/oder antitoxische Wirkung zeigen können.

3. Gammaglobulintherapie von bakteriellen Infektionen in der Klinik.

Mit Ausnahme der Fälle von primären oder sekundären Antikörpermangelsyndromen gleich welcher Ätiologie, bei denen sich eine Substitutionsbehandlung mit Gammaglobulinen von selbst anbietet, erweist sich die sichere Beurteilung einer solchen Therapie von bakteriellen Infektionen bei Patienten ohne diese Defizienzen in der Klinik nicht zuletzt deshalb als außerordentlich schwierig, weil sie häufig neben einer Antibiotikagabe als ultima ratio nicht mehr beherrschbar erscheinender Situationen durchgeführt wird. Insgesamt erscheint die Diskussion sehr kontrovers geführt, und die Befunde - positive wie negative - sind schwer miteinander zu vergleichen. Es existiert eine Fülle von positiven Kasuistiken (z.b. 54, 56, 61, 94). SEIFERT berichtet in einer Zusammenstellung von Therapieerfolgen bei Osteomyelitiden, Pyelonephritiden, Bronchopneumonien, Meningitiden und bei Sepsis (98), die jedoch erst durch wenige kontrollierte Studien verifiziert wurden.

So zeigten PROBST et al. in einer prospektiven randomisierten Studie an 100 Patienten nach abdomino-sakraler Rektumexstirpation unter Therapie mit einem Pepsin-gespaltenen Gammaglobulin gegenüber einer Kontrollgruppe eine signifikante Verminderung der putriden sakralen Sekretion, eine erhöhte Primärheilungsrate sowie eine verkürzte Krankenhausliegezeit (74). DUSWALD et al. konnten als Ergebnis einer kontrollierten, randomi-

sierten Studie nachweisen, daß die Zahl des Auftretens von postoperativen Infektionen unter Therapie mit einem 7S-ß-Propiolacton-Gammaglobulin deutlich gesenkt werden konnte, und daß bei Patienten mit Infektionen septische Allgemeininfektionen seltener auftraten (26). Vielleicht beruht die Wirkung der Gammaglobuline bei den zuletzt genannten Beispielen u.a. auch auf dem Ausgleich der durch Narkose und Operationsstress hervorgerufenen Immunsuppression (16).

4. Das Peritonitismodell.

Das in dieser Arbeit verwendete Peritonitismodell, die Colonincision unter Chloralhydratnarkose , besitzt drei hauptsächliche Vorteile.

Einmal hat dieses Modell kliniknahe Aspekte einer Nahtinsuffizienz oder Darmperforation. Weiter kommt es als Folge davon zu einer raschen Überschwemmung der Bauchhöhle mit Keimen und deren Toxinen, die wegen der großen Resorptionsfläche des Peritoneums sehr schnell in die Blutbahn eindringen können (51). Drittens kann man eine im Humanbereich nachgewiesene Beeinträchtigung der humoralen Abwehrleistung durch Operations- und Narkosestress (16, 39) auch bei der Ratte voraussetzen. Es handelt sich also um ein massives Trauma mit nachfolgender intraperitonealer Infektion und Sepsis aufgrund von Keim- und Endotoxineinschwemmung in die Blutbahn sowie einer Verminderung der Gammaglobulinaktivität aufgrund von Verbrauch und/oder einer

möglicherweise vorhandenen Suppression bei Einschränkung der Lymphozytenfunktion.

Der Gedanke lag nahe, zum einen Antikörper zu substituieren und zum anderen mit Antikörpern die hochgradige bakterielle Infektion zu therapieren, also über eine bloße Substitution hinauszugehen. Somit ergab sich die Notwendigkeit einer genügend hohen Dosierung, um überhaupt die Chance einer positiven Wirkung zu haben (11, 26, 41, 78, 99).10 - 20 g pro Patient erscheint in der Literatur in vielen Fällen als ausreichend. Die von uns verwendete Dosis von 150 mg pro 300 g Körpergewicht und pro Tag entspricht einer Dosis von umgerechnet 37,5 g pro 75 kg Körpergewicht und pro Tag im Humanbereich und sollte den Anforderungen genügen. Der intraperitoneale Applikationsmodus gewährleistete, daß die Immunglobuline hoch konzentriert direkt an den Ort der Infektion gelangen.

Das Modell scheint nur ein subletales Infektionsmodell zu sein, wie der relativ große Prozentsatz überlebender Tiere ohne Therapie glauben machen könnte. Wenn man bedenkt, daß ein Großteil der Tiere, die starben, innerhalb der ersten 24 Stunden nach Setzen der Infektion, also bereits in der Anfangsphase der Peritonitis, starb, muß man davon ausgehen, daß die massive Keimeinschwemmung und die sich diffus ausbreitende Peritonitis perakut zum Tode führten. Es ist allerdings denkbar, daß Tiere, denen es gelang, z.B. aufgrund der von der guten Blutversorgung und dem

reich entwickelten Lymphgefäßsystem abhängigen antibakteriellen Aktivität des Bauchfells hauptsächlich gegen gramnegative Keime (51, 65) die Infektion bereits in der Anfangsphase zu beherrschen, überlebten. Im Gegensatz dazu starben die Tiere perakut therapieunabhängig, die es nicht verstanden, vielleicht wegen einer primären Immunschwäche und/oder eines sich schnell entwickelnden, nicht mehr zu überwindenden immunologischen Ungleichgewichtes die Folgen der Infektion zu überwinden. Nun könnte man einwenden, daß die überlebenden Tiere überhaupt keine Peritonitis entwickelt hätten. Dies erscheint nun in der Mehrzahl der Fälle als unwahrscheinlich, da die Sektion der überlebenden Tiere fast immer wenn auch geringe Mengen an Exsudat sowie häufig leichte Adhäsionen der Darmschlingen untereinander zeigte, also das makroskopische Bild einer Peritonitis bot. Darüberhinaus sollte das gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe erhöhte Lungenfeuchtgewicht bzw. der höhere Quotient aus Lungenfeuchtgewicht und Körpergewicht ein Beweis dafür sein, daß eine Auseinandersetzung des Organismus mit der Infektion bzw. den bakteriellen Toxinen stattgefunden haben muß.

Nun stellte sich heraus, daß gegenüber einer Kontrollgruppe ohne jede Therapie nur das Plasmin-gespaltene Präparat, auf das gesondert eingegangen werden muß, die Letalität der Tiere an der experimentellen Peritonitis zu senken vermag. Einige Gammaglobulinpräparate (7S-pH4-, 7S-Standard-, Pepsin-gespaltenes-GG) erhöhten sogar die Sterblichkeit gegenüber dieser Kon-

trollgruppe. In einem zweiten Kontrollexperiment mit Humanalbuminbehandlung verstarben alle Tiere. Im Vergleich mit dieser Gruppe bewirkten zwei weitere Immunglobulinpräparate, das 7S-ß-Propiolacton- und das 7S-PEG-Gammaglobulin eine signifikante Letalitätssenkung. Festzuhalten bleibt demnach, daß allein das Plasmin-gespaltene Präparat in der Lage war, die Sterblichkeit gegenüber beiden Kontrollgruppen statistisch signifikant zu senken.

Eine neuerdings beschriebene Suppression vor allem der primären Immunantwort durch eine hoch dosierte Gabe von 7S-Produkten aufgrund eines erhöhten Katabolismus und/oder einer verringerten Synthese körpereigener Gammaglobuline durch eine Proliferationshemmung der Plasmazellen (31, 93, 103) dürfte hier wegen des außerordentlich raschen letalen Verlaufs der Infektion nicht ausschlaggebend sein, da eine eigene vermehrte Antikörperproduktion innerhalb der kurzen Zeit zwischen Infektion und Tod nicht anlaufen dürfte.

5. Nebenwirkungen der Gammaglobulinapplikation.

Die Nebenwirkungen nach Gammaglobulinapplikation werden in anaphylaktoide und phlogistische Reaktionsformen unterteilt (37).

a) Die anaphylaktoide Reaktion.

Die anaphylaktoiden Reaktionen können sowohl bei ungespaltenen 7S- als auch bei gespaltenen Gammaglobulinen in seltenen Fällen

bei Personen ohne Antikörpermangelsyndrom nach einer Latenz von wenigen Minuten in Form von Hautrötungen, Blutdruckabfall, Pulsfrequenzanstieg und anderen Schocksymptomen auftreten. Verantwortlich werden dafür bestimmte Entzündungsmediatoren und eine Komplementaktivierung gemacht.

Antikörper gegen IgG-Determinanten dürften im homologen System ohne klinische Bedeutung sein (11, 37). Es wäre aber denkbar, daß sich im heterologen System präformierte, reaktive oder kreuzreagierende Antikörper gegen Strukturen des menschlichen Gammaglobulin- und Humanalbuminmoleküls richten. Dies dürfte jedoch unter den gewählten Bedingungen ohne Konsequenzen der oben beschriebenen Art sein, nachdem sich im Doppelradialfiffusionstest nach OUCHTERLONY keine derartigen Antikörper nachweisen ließen. Es sollte aber nicht unerwähnt bleiben, daß z.B. durch Säurebehandlung (7S-pH4-GG) das Gammaglobulinmolekül in seiner Tertiärstruktur verändert wird (91), und daß die Alkylierung und Azylierung des Fc-Teils durch ß-Propiolacton die Bindungsstellen für den ersten Faktor der Komplementaktivierungskaskade chemisch verändern. Einige Autoren (11, 91) halten deshalb die Diskussion über eine mögliche Immunogenität - oder wenigstens Alteration - dieser Gammaglobulinmoleküle für nicht endgültig beendet, auch wenn z.B. STEPHAN aus eigenen Befunden den Schluß zieht, daß ß-Propiolacton die antigenen Eigenschaften des Moleküls nicht verändert (107, 111, 113).

Ein weiterer Grund für bei Anwendung im humanen Bereich bekannte anaphylaktoide Zwischenfälle nach Komplementaktivierung können zirkulierende, von Antigenen unabhängige Immunglobulinaggregate sein. Standard-Gammaglobuline besitzen einen relativ hohen Prozentsatz von Aggregaten, aber auch chemisch modifizierte, ungespaltene Immunglobuline können - in allerdings bedeutend geringerem Maße - solche Aggregate, besonders nach Kontakt mit Oberflächen oder bei Denaturierung aufweisen (36, 102, 103). Pepsin- und Plasmin-Gammaglobuline bilden keine Aggregate, die an das überwiegende Vorhandensein von intakten Molekülen und ihrer Fc-Teile gebunden sind.

Wenn man davon ausgeht, daß alle verwendeten Gammaglobulinpräparate von gesunden Kontrolltieren ohne klinische Symptomatik vertragen wurden, dann dürften nicht nur mögliche Antikörper gegen humanes Gammaglobulin, sondern auch Immunglobulinaggregate keine Rolle im Hinblick auf eine Verschlechterung der Überlebenschance gespielt haben.

b. Die phlogistische Reaktion.

In der Klinik ist die phlogistische Reaktion die weitaus häufigste Form von Nebenwirkungen nach zu schneller Applikation hoch dosierter Gammaglobulinpräparate (37). Dabei kommt es bei gleichzeitiger massiver Antigenüberladung, wie sie bei unserer experimentell gesetzten Peritonitis vorausgesetzt werden kann, unter Therapie mit ungespaltenen 7S-Präparaten zur Bildung von

Antigen-Antikörper-Komplexen (96), die über den Fc-Teil des Gammaglobulinmoleküls die Aktivierungskaskade des Komplementsystems über den klassischen Weg in Gang setzen. Die Entzündungsreaktion wird unterhalten durch Makrophagen und neutrophile Granulozyten, die nach Aktivierung des Komplementsystems chemotaktisch angelockt werden, diese Komplexe phagozytieren (37, 60, 92, 93, 96) und dabei zerstört werden. Auf die möglichen Folgen der dabei frei werdenden Hydrolasen für das Gammaglobulinmolekül wird an anderer Stelle eingegangen werden.

Das Komplementsystem kann jedoch nicht nur durch Immunkomplexe auf dem klassischen Weg, sondern auch durch $F(ab')_2$-Fragmente aus Pepsin-gespaltenen Gammaglobulinen und durch in der Zellwand lokalisierte Lipopolysaccharide, den Endotoxinen gramnegativer Bakterien auf dem sog. "alternate pathway", dem alternativen Weg aktiviert werden (47, 48, 92). Die Folgen für das Entzündungsgeschehen sollten grundsätzlich dieselben wie die für den klassischen Weg beschriebenen sein, auch wenn qualitative Unterschiede zwischen der klassischen und alternativen Aktivierung bestehen.

Von manchen Autoren wird nun behauptet, daß $F(ab')_2$-Fragmente und Immunkomplexe unter Beteiligung von $F(ab')_2$-Fragmenten einen mitigierenden oder schwächeren Effekt auf die phlogistische Reaktion und andere Nebenwirkungen aufweisen (37, 93, 96). Dabei wird z.B. im Tierversuch aus allerdings relativ groben

klinischen Beobachtungskriterien wie Beeinträchtigung der Bewegung, Veränderung der Atmung usw. auf ein nach intravenöser Applikation von aus $F(ab')_2$-Antikörpern gebildeten Immunkomplexen nicht mehr vorhandenes Auftreten von Schockreaktionen geschlossen (96). Auch andere diesbezügliche Untersuchungen (37) sind aufgrund der geringen Anzahl von Probanden und der wiederum nicht zuletzt auch deshalb schwer zu beurteilenden Beobachtungskriterien nicht nachvollziehbar. Weiter sprechen die pathophysiologischen Vorstellungen bezüglich der Komplmentaktivierung gegen eine deutlich geringere Auswirkung von $F(ab')_2$-Fragmenten und ihrer Immunkomplexe auf die phlogistische Reaktion.

Der Komplementfaktor C3 nimmt in der Aktivierungskaskade des Komplementsystems auf dem klassischen u n d dem alternativen Weg eine zentrale Stellung ein. Seine auf beiden Wegen gebildeten Spaltprodukte C3a und C5a stellen Entzündungsmediatoren dar, die neutrophile Granulozyten, Makrophagen und Monozyten zur Bewegung veranlassen, neutrophile Granulozyten zur Ausschüttung von lysozymalen Enzymen anregen und damit eine Entzündungsreaktion verstärken können (15, 77, 92, 93).

Die Erklärung einer im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Therapie sogar leicht erhöhten Letalität nach Gabe von zwei 7S-Gammaglobulinen und dem $F(ab')_2$-Präparat über eine verstärkte und vielleicht auch prolongierte Entzündungsreaktion ist aus mehreren Gründen als Teilaspekt diskussionswürdig.

Die ungespaltenen 7S-Präparate und das Pepsin-behandelte Präparat wurden in hoher Dosis intraperitoneal injiziert. Der Organismus der Tiere wurde mit Endotoxinen gramnegativer Bakterien überschwemmt, was die Voraussetzung für eine erhöhte Aktivierung des Komplementsystems auf klassischem und alternativem Weg schafft. Schließlich verfügt das Peritoneum über ein ausgedehntes Lymphgefäßnetz und damit über die Möglichkeit einer raschen Bereitstellung von Leukozyten. Dies würde bedeuten, daß im Falle einer massiven bakteriellen Infektion die an sich unwünschte Wirkung von Entzündungsmediatoren (Histaminausschüttung, Stimulation von neutrophilen Granulozyten zur Abgabe von lysosomalen Enzymen) unter einer Stoßtherapie mit 7S- und $F(ab')_2$-Präparaten die erwünschte Opsonierung und Phagozytose von Keimen neutralisiert und so - vergleicht man mit der Kontrollgruppe ohne jede Therapie - in ihrer positiven Auswirkung auf den Organismus zumindest aufheben kann.

Um einer Lösung dieser Probleme näherzukommen, müßte man beurteilen können, ob tatsächlich eine verstärkte Entzündungsreaktion vorliegt. Dazu wären einmal Untersuchungen über das Zusammenspiel von Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und Komplementsystem im Peritoneum nach intraperitonealer Gammaglobulinstoßtherapie bei einer Peritonitis notwendig. Weiter sollte die Menge von Immunkomplexen, der Titerverlauf der Komplementfaktoren C3, C3a und C5a, die auf beiden Wegen der Komplementaktivierung als Spaltprodukte gebildet werden, bekannt

sein. Auch müßte der Titerverlauf von hydrolytischen Enzymen vor allem im Peritonealexsudat, aber auch im Blutplasma bei Tieren mit einer Peritonitis bestimmt werden.

6. Das Peritoneum als semipermeable Membran.

Die zuletzt gemachten Ausführungen sind nur ein Aspekt für eine mögliche Erklärung der - mit einer Ausnahme - eingeschränkten Wirksamkeit der Gammaglobulintherapie gegenüber der Kontrollgruppe ohne jede Therapie im Rahmen des gewählten Peritonitismodells. Dies auch deshalb, weil alle Tiere nach intraperitonealer Kontrollapplikation von Humanalbumin verstarben, und drei Gammaglobuline, zwei ungespaltene Immunglobulinpräparate und das Pepsin-behandelte Produkt die Sterblichkeit auch gegenüber dieser Kontrollgruppe nicht signifikant zu senken vermochten. Der Gedanke liegt nahe, daß ein mit dem oben beschriebenen pathophysiologischen Mechanismus nicht vergleichbarer Vorgang eine zusätzliche Rolle spielen könnte.

Der Zugang zu diesem Phänomen wird erleichtert, wenn man sich die Aufgabe des Peritoneums als semipermeable Membran vergegenwärtigt. Niedrigmolekulare Substanzen diffundieren so lange zwischen Blut und Peritonealflüssigkeit hin und her, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat. Großmolekulare Substanzen nehmen in sehr viel geringerem Umfang an diesem Stoffaustausch teil. Entzündungen in der Bauchhöhle oder - und dies scheint bei den vorliegenden Untersuchungen besonders wichtig - die

intraperitoneale Applikation großer Dosen hochmolekularer Substanzen, wie sie Albumine, aber auch Gammaglobuline darstellen, können sehr schnell zu großen Mengen Exsudat führen. Erschwerend kommt hinzu, daß eine voll ausgebildete Peritonitis die Resorption von Molekülen behindert (51). In dem angewandten Peritonitismodell tragen möglicherweise beide Faktoren, die phlogistische Reaktion und die intraperitoneale Verabreichung hochmolekularer Substanzen, gemeinsam auch zur Ausbildung eines Volumenmangels bei und verschlechtern eine Kreislaufsituation, die schon durch jeden dieser Faktoren alleine belastet wäre.

7. Das Dosisproblem.

Ein weiteres nicht zu unterschätzendes, letztlich bis heute noch nicht gelöstes Problem in der Therapie bakterieller Infektionen mit Gammaglobulinen ist das der Menge der an den Ort der Infektion überhaupt gebrachten spezifischen Antikörper, da sich die Titerhöhen antibakterieller Antikörper in 5%igen Lösungen oft nur in Größen von 1 : 10 bis 1 : 40 bewegen (78) bzw. einige Hersteller das antibakterielle Wirkungsspektrum ihrer Präparate nicht angeben können. Daraus folgt, daß trotz der sehr hohen Dosierung von jeweils 150 mg/300g KG (= 37,5 g pro 75 kg KG) keine Sicherheit darüber besteht, ob eine ausreichende Zahl von spezifischen Antikörpern zur effektiven Infektabwehr vorhanden ist. Darüberhinaus werden die in der Bundesrepublik erhältlichen Gammaglobuline aus Blutplasma zahlreicher

Spender hergestellt, was zur Folge hat, daß das Antikörperspektrum die epidemiologische Situation des Spenderkollektivs darstellt. Nun wird z.B. E. coli in sehr viele serologisch unterscheidbare Typen eingeteilt, deren Grund in verschiedenen Geisel-, Kapsel- und Hüllenantigenen zu suchen ist (123). Es waren keine verläßlichen Angaben darüber zu erhalten, ob die Darmflora der Ratte in Bezug auf E. coli, aber auch auf andere pathogene Enterobakterien, die im einzelnen von uns nicht nachgewiesen worden waren, der des Menschen in allen serologischen Einzelheiten entspricht, d.h., ob menschliche Gammaglobulinpräparate eine ausreichende Menge von spezifischen Antikörpern gegen antigene Determinanten von Keimen der Rattendarmflora enthalten. Auch ist oft keine sichere Aussage darüber möglich, inwieweit ein - obwohl serologisch nachgewiesener - spezifischer Antikörper in vivo zur Infektabwehr beiträgt und damit tatsächlich eine prophylaktische und vor allem therapeutische Wirkung besitzt (124).

8. Das Plasmin-gespaltene Gammaglobulinpräparat.

Nach all diesen Überlegungen erscheint es eher erstaunlich, daß ausgerechnet das Plasmin-gespaltene Gammaglobulinpräparat die Letalität bei der experimentellen Peritonitis gegenüber beiden Kontrollgruppen am wirkungsvollsten zu senken vermochte. In der Tat ist man geneigt, auch dem Zufall eine gewisse Rolle zuzuschreiben, trotz statistisch signifikanter Letalitätssenkung und obwohl ein Vergleich zwischen aus Plazentaextrakten gewon-

nenen und aus Plasma hergestellten Plasmingammaglobulinen hier keinen Unterschied ergab. Dieser Befund läßt so eine Beteiligung von möglicherweise vorhandenen und von uns vermuteten Plazentahormonen als unwahrscheinlich erscheinen. Trotzdem gibt es den einen oder anderen Anhaltspunkt, der dieses Phänomen erklären könnte. Dazu ist es notwendig, sich noch einmal die Auswirkungen der Plasminbehandlung auf das Immunglobulinmolekül zu vergegenwärtigen.

Die Subklassen IgG 2 und IgG 4 sowie eine geringe Menge des IgG 1 können als relativ plasminresistent betrachtet werden, während IgG 1 und vor allem IgG 3 durch Plasmin gespalten werden. Die plasminresistente ungespaltene 7S-Komponente, die 30 - 50% beträgt und durchaus noch, wenn auch in bedeutend geringerem Maße als die Subklassen IgG 1 und IgG 3, die Fähigkeit zur Komplementaktivierung besitzt (25), ist vermutlich der entscheidende Teil im Hinblick auf eine Schutzfunktion dieses Gammaglobulinpräparats (5, 11, 13, 76, 104, 106). Die Spaltprodukte bestehen nun aus drei Fragmenten, zwei monovalenten Fab- und einem Fc-Fragment, mit einem Molekulargewicht von jeweils etwa 50000. Weiter finden sich Moleküle mit einem Molekulargewicht von ungefähr 115000. Diese sollen mit einem einzelnen untereinander verbundenen IgG 1-Fab/Fc-Fragment identisch sein (106).

Geht man davon aus, daß die Menge der Immunkomplexe bildenden

7S-Gammaglobulinmoleküle durch die Plasminspaltung verringert ist, die monovalenten Fab-Fragmente auf klassischem Weg nicht und auf alternativem Weg -wenn überhaupt - nur in ganz geringem Ausmaß Komplement binden (63, 96, 1o5), so könnte eine phlogistische Reaktion als unerwünschte, den Krankheitsverlauf negativ beeinflussende biologische Funktion geringer ausgeprägt sein als bei ungespaltenen Präparaten, aber auch bei Pepsin-behandelten Gammaglobulinen, deren $F(ab')_2$-Bruchstücke - wie ausführlich dargelegt - Komplement über den alternativen Weg aktivieren können. Zum einen ist ein größerer Prozentsatz intakter 7S-Moleküle in Form der Subklassen IgG2 und IgG 4 vorhanden, die bei antigenem Kontakt etwas Komplement zu binden vermögen (25), was die Voraussetzung für die Phänomene der Immunadhärenz, Opsonierung und Phagozytose ist, zum anderen sind die Fab-Bruchstücke in der Lage, Toxine zu binden und zu neutralisieren.

Man muß sich selbstverständlich im klaren darüber sein, daß diese Hypothesen bis heute durch nichts bewiesen sind, und daß das, was über die Applikation hochmolekularer Lösungen in die Bauchhöhle und vor allem über das Problem einer ausreichenden Dosierung spezifischer Antikörper bei einer Peritonitis gesagt wurde, für alle Gammaglobulinpräparate gleichermaßen gültig sein sollte. Auch hier wären weitere vergleichende Befunde an anderen Infektionsmodellen, Untersuchungen über Art und Umfang des Beitrages der Ig G-Subklassen zur bakteriellen Infektions-

abwehr sowie nähere Kenntnisse über eine im Vergleich zu anderen Gammaglobulinen geringere Beeinflussung der intraperitonealen Entzündungsreaktion durch das Plasmin-Präparat in der Art der bereits oben vorgeschlagenen Untersuchungen (C3, C3a, C5a, Hydrolasen) notwendig, um besser beurteilen zu können, ob die im Rahmen des angewandten Modells überzeugende Wirkung des Plasmin-gespaltenen Gammaglobulins durch andere Modelle reproduzierbar ist.

9. Die Beteiligung der Lungen.

Bei Infektionen des Bauchraums wird häufig die Pleurahöhle, d.h. vor allem die Lungen durch lymphogene und/oder hämatogene Ausbreitung mitbetroffen (28, 51). Tatsächlich wurde bei der Sektion gestorbener Tiere und eines Teils der überlebenden Tiere ohne Therapie das makroskopische Bild von dunkelroten, kompakten und schweren Lungen gefunden. Die Höhe des Lungenfeuchtgewichts galt als Parameter für ein, durch bakterielle Toxine verursachtes, sich parallel zur Peritonitis entwickelndes Lungenödem.

Der signifikante Rückgang des Lungenfeuchtgewichts überlebender Tiere bzw. des Quotienten aus Lungenfeucht- und Körpergewicht unter Therapie läßt den Schluß zu, daß alle untersuchten Gammaglobulinpräparate in der Lage sind, Bakterientoxine zu binden und so möglicherweise die Entstehung eines Lungenödems bei therapierten Überlebenden positiv zu beeinflussen. Das könnte

bedeuten, daß die meisten untersuchten Gammaglobuline zwar nicht die Letalität an einer massiven perakut verlaufenden Infektion des Bauchraums zu senken vermögen, aber die Fähigkeit besitzen, durch Neutralisation bakterieller Endotoxine Folgeerscheinungen wie z.B. ein Lungenödem bei Überlebenden zu mildern, Folgeerscheinungen, die ohne Therapie schwerer zu sein scheinen, wie man aus den innerhalb des Beobachtungszeitraums nicht zur Norm zurückkehrenden Werten der Überlebenden ohne Therapie ersehen kann.

10. Die Organverteilung der Immunglobuline.

Gammaglobulinpräparate sollten nicht nur spezifische, in vivo auch tatsächlich wirkende Antikörper gegen die interessierenden Keime und diese bei antigenem Kontakt die Fähigkeit zur Komplementaktivierung aufweisen, sondern auch ein metabolisches Verhalten zeigen, welches den Molekülen ermöglicht, biologisch verfügbar zu sein und ihre Funktionen zu erfüllen.

Es ist schon längere Zeit bekannt, daß es sowohl bei der intravasalen Halbwertszeit als auch der Organverteilung Unterschiede zwischen Standard-Gammaglobulinen und enzymatisch behandelten Immunglobulinen gibt. So wiesen SPIEGELBERG und JANEWAY auf die außerordentlich rasche Elimination bzw. den raschen Katabolismus innerhalb von Stunden bis wenigen Tagen von $F(ab')_2$-Fragmenten hin (46, 108, 109), während die Halbwertszeit von ungespaltenen Molekülen immerhin etwa 20 Tage beträgt.

Die Frage war deshalb, inwieweit die chemische Modifizierung und die enzymatische Aufbereitung der Gammaglobulinmoleküle auf die Verteilung innerhalb des gesunden und infizierten Organismus Einfluß nehmen, vor allem auch vor dem Hintergrund der intraperitonealen Applikation, die ein Verteilungskompartiment mehr bedeutet.

Fast alle ungespaltenen Gammaglobuline erscheinen im Blut - betrachtet man infizierte und gesunde Tiere gemeinsam - eher besser verteilt als die enzymatisch behandelten Präparate, vor allem als das Plasmin-Immunglobulin. Man kann also vermuten, daß der nicht abgespaltene Fc-Teil, der die Passage durch biologische Membranen ermöglicht (11, 77), hier dazu beiträgt, daß ein Übertritt vom Peritonealraum in die Zirkulation in größerem Umfang als bei den enzymatisch gespaltenen Gammaglobulinen erfolgt. Nun sollte das Pepsin-Gammaglobulin bereits innerhalb weniger Stunden nach Applikation schneller metabolisiert und ausgeschieden werden als die ungespaltenen Präparate mit einem intakten Fc-Anteil (79, 100,108). Dies traf in unserem Rattenmodell jedoch nur für das Standard-Gammaglobulin zu, das ja keine Modifikation zeigt. Die anderen 7S-Produkte wiesen ähnliche, wenn nicht höhere Radioaktivitätsanteile wie das Pepsin- oder das Plasmin-Gammaglobulin im Urin auf.

Nach SPIEGELBERG et al. ist die Struktur des Gammaglobulinmoleküls, die für das Verbleiben in der Zirkulation erforderlich

ist, in der "heavy chain" repräsentiert (109). Sie zeigten, daß die Eliminationszeit eines isolierten Fc-Teils der eines kompletten Gammaglobulinmoleküls sehr ähnlich ist. Möglicherweise verändern die Verfahren zur Blockierung der spontanen Komplementaktivierung die Struktur der Fc-Fragmente derart, daß die Moleküle eher metabolisiert und ausgeschieden werden oder von den Glomeruli der Nieren vermindert resorbiert werden, da eine bestimmte Struktur im Fc-Teil für eine tubuläre Resorption in den Nieren verantwortlich sein könnte (108).

Da die Grenze für den Teilchendurchtritt durch die Glomerulusmembran bei einem Molekulargewicht von etwa 80000 liegt (89), lassen sich unter physiologischen Bedingungen im normalen Urin nur Bruchstücke von Immunglobulinen nachweisen. SEIFERT (100) und RING (79) konnten zeigen, daß für die schnellere Elimination des Pepsin-Gammaglobulins ein rascherer Katabolismus mit nachfolgender Ausscheidung von Bruchstücken oder von freiem Jod, d.h. nicht proteingebundener Aktivität, verantwortlich zu machen ist. Diese Aussage scheint nach den vorliegenden Ergebnissen auch für einen bestimmten Teil der chemisch modifizierten ungespaltenen 7S-Gammaglobulinmoleküle aus den beschriebenen Gründen zuzutreffen.

Die in der Klinik in der Regel vorhandene Proteinurie, d.h. eine gegenüber der Norm erhöhte Eiweißausscheidung bei einer Sepsis konnte bei diesen Untersuchungen nicht festgestellt wer-

den. Für die applizierten Gammaglobuline gilt das Gegenteil. Die mit Ausnahme des Standardpräparats trotz großer Standardabweichungen zu beobachtende Tendenz aller übrigen Gammaglobuline, im Urin von Tieren mit Infektion eine geringere Aktivitätsanreicherung aufzuweisen als im Urin gesunder Tiere, kann mit einem schnellen Verbrauch von zugeführten Antikörpern durch eine Antigen-Antikörper-Reaktion mit Bildung von Immunkomplexen im zirkulierenden Blut erklärt werden. Diese Immunkomplexe werden nicht über die Nieren ausgeschieden, tragen aber durch die in ihnen gebundenen markierten Gammaglobuline zur Aufrechterhaltung einer im Blut meßbaren Aktivität bei. Die auch beim Humanalbumin festzustellende Abnahme der Aktivitätsausscheidung bei infizierten Tieren könnte durch verschiedene, voneinander unabhängige Ursachen bedingt sein. Entzündliche Ödeme besitzen sehr große Albuminmengen, die Größenordnungen von bis zu 20 – 30 mg pro ml Ödemflüssigkeit bzw. Exsudat annehmen können (60). Man kann demnach davon ausgehen, daß die durch die Peritonitis hervorgerufenen entzündlichen Ödeme des Bauchraums auch einen gewissen Anteil des applizierten, radioaktiv markierten Albumins enthalten, der in Fragmenten verzögert ausgeschieden wird. Möglicherweise wird ein weiterer Prozentsatz des verabreichten Albumins wegen der eingeschränkten Nahrungsaufnahme und der katabolen Stoffwechselsituation im Rahmen einer Sepsis sehr schnell als Aminosäurereserve vom Organismus in Anspruch genommen (60). Es ist denkbar, daß diese beiden Faktoren zusammen mit einem bei einer ausgebildeten Peritonitis vorhande-

nen Resorptionsblock für eine gegenüber gesunden Tieren geringere Radioaktivitätsausscheidung innerhalb der ersten 24 Stunden nach Setzen der Infektion verantwortlich sind. Trotzdem erkennt man eine Neigung des Organismus infizierter Tiere, an 7S-Gammaglobuline bzw. deren Bruchstücke gebundene Radioaktivität, signifikant ausgeprägt bei dem 7S-ß-Propiolacton- und dem Standard-Präparat, im Vergleich zum Humanalbumin vermindert auszuscheiden.

Die Tatsache, daß von den Organen des Magen-Darm-Trakts Dünndarm und Magen bei einigen Präparaten, vor allem aber das Colon der Tiere mit einer Peritonitis bei allen Gammaglobulinen eine sehr deutliche Aktivitätszunahme zeigen, scheint zu bedeuten, daß alle untersuchten Gammaglobulinpräparate am Ort der Infektion gebunden werden. Die Aktivitätszunahme im Colon infizierter Tiere nach Albuminapplikation dürfte wieder auf einer Anreicherung in einem durch Bakterientoxine verursachten entzündlichen Ödem dieses Organs beruhen.

In der Bauchmuskulatur infizierter Tiere findet sich bei allen untersuchten Immunglobulinpräparaten im Gegensatz zur Oberschenkelmuskulatur eine sehr deutliche Aktivitätszunahme. Das ist nicht weiter verwunderlich, wenn man bedenkt, daß die Bauchmuskulatur direkt über dem Ort der Infektion liegt; außerdem muß man annehmen, daß beim Legen der Nähte Bakterienmaterial durch die Nadel ins Gewebe verschleppt wurde.

In einigen Organen, wie Lymphknoten, Niere oder Muskulatur zeigen sich keine Verteilungsunterschiede zwischen dem Pepsin-gespaltenen Präparat und den ungespaltenen Gammaglobulinen. Insgesamt läßt sich im Vergleich zu den enzymatisch behandelten Immunglobulinen, betrachtet man Organe wie Milz, Leber, Lunge, Herz und Gehirn, eine etwas bessere Verteilung einiger ungespaltener Gammaglobuline, d.h. des 7S-Standard-Präparats bei nicht infizierten Tieren und des 7S-PEG-Gammaglobulins bei Tieren mit Peritonitis feststellen. Beide Präparate weisen sicherlich die geringsten strukturellen Veränderungen an den Molekülen auf. Dies läßt vermuten, daß ein möglichst intakter Fc-Teil des Gammaglobulinmoleküls für die Verteilung innerhalb des Organismus erforderlich ist, und daß diese Komponente des Moleküls bei Verfahren zur Verhinderung der spontanen unspezifischen Komplementaktivierung auch aus diesem Grunde weitgehend geschont werden sollte.

Eine von VOLLERTHUN et al. beschriebene Anreicherung eines Pepsin-gespaltenen Gammaglobulins im Interstitium, die sie auf eine schnellere Diffusion des verkleinerten Moleküls in den Extravasalraum zurückführten (121), konnte nicht nachvollzogen werden. Mit einigen ganz wenigen Ausnahmen konnte im Vergleich zu ungespaltenen Präparaten keine höhere Anreicherung des Pepsin-behandelten Präparats weder bei gesunden noch bei infizierten Tieren festgestellt werden.

Es muß zunächst offen bleiben, warum das Plasmin-gespaltene Gammaglobulin die von allen Präparaten, das Humanalbumin eingeschlossen, letztlich niedrigsten Verteilungswerte aufweist, und welche Gründe es für die Diskrepanz zwischen schlechter Verteilung und von allen Gammaglobulinen bester Wirksamkeit im Schutzversuch gibt. Gegen eine denkbare im Vergleich zum Pepsin-Präparat noch raschere Elimination der Fab-Fragmente über die Nieren sprechen die an sich relativ niedrigen Aktivitätswerte im Urin. Auch ist nicht geklärt, welchen Beitrag die vier IgG-Subklassen zur Gesamtverteilung eines Gammaglobulins innerhalb des Organismus beitragen, auch wenn größere funktionelle Unterschiede zwischen den Subklassen nicht sicher bekannt sind (102).

11. Die Aufspaltung der Gammaglobuline.

Die neutrophilen Granulozyten, aber auch die Makrophagen spielen eine wichtige Rolle im Rahmen der Infektionsabwehr. Beide Zellarten phagozytieren und besitzen große Mengen von Hydrolasen, wie Lysozym und Kathepsine, die neben anderen Enzymen Bakterien auflösen können. Die im Rahmen einer Entzündungsreaktion chemotaktisch angelockten neutrophilen Granulozyten und Makrophagen nehmen Bakterienmaterial und Immunkomplexe auf. Die mit Hydrolasen angefüllten Granula verschmelzen mit dem Phagosom und ihr Inhalt ergießt sich schließlich in die Zelle, die sich dabei selbst verdaut. Die frei werdenden Kathepsine können Proteine aufspalten. GHETIE et al. lieferten zu diesem

Punkt einen interessanten Beitrag (38). Sie zeigten, daß neutrophile Granulozyten, die aus der Peritonealflüssigkeit von Meerschweinchen gewonnen worden waren, in der Lage sind, IgG-Moleküle von Kaninchen in Fab- und möglicherweise in Fc-ähnliche Fragmente aufzuspalten. Dies geschieht nach GHETIE auf der Stufe der Hydrolasen enthaltenden Granula nach einer intrazellulären Aufnahme von Gammaglobulinen durch neutrophile Granulozyten. Man vermutet als Ursache dieser gesteigerten Aufnahme von Gammaglobulinen eine strukturelle Veränderung durch die Präparierung und Markierung der Gammaglobuline in vitro, deren physiologisches Äquivalent in vivo eine Überalterung der Moleküle sein könnte.

Es ist also möglich, und die vorgelegten Befunde sprechen dafür, daß es bei einer massiven Infektion des Bauchraums bereits frühzeitig zu einer mehr oder weniger starken Abspaltung von Molekülanteilen ähnlich den beschriebenen Vorgängen kommt. Dies könnte bereits intrazellulär (siehe oben) und/oder nach der Selbstverdauung der neutrophilen Granulozyten im Rahmen der bakteriellen Abwehr bei gleichzeitiger Ausschüttung von verschiedenen Hydrolasen geschehen.

Die Gammaglobulinmoleküle der einzelnen Präparate weisen einmal einen unterschiedlichen Restanteil an intakten 7S-Molekülen auf, zum anderen haben die verschiedenen chemischen Modifikations- und Stabilisierungsverfahren mit Sicherheit unterschied-

lich starke Auswirkungen auf eine Alteration der ungespaltenen Moleküle. Man muß aber davon ausgehen, daß auch bei den enzymatisch gespaltenen Immunglobulinen mit einem sehr geringen bzw. kleineren Rest von völlig intakten Molekülen oder bei den ungespaltenen 7S-Präparaten mit einer stärkeren Modifikation am Molekül innerhalb der ersten Stunden nach Setzen der Infektion keine sehr große Verschiebung des großmolekularen Molekülanteils in den kleinermolekularen Bereich stattfindet. Die kleineren Fragmente weisen gemäß der erstellten Eichkurve ein Molekulargewicht auf, das zwischen 15000 und 30000 liegt. Noch kleinere Fragmente oder möglicherweise nur Aminosäuren hätte man mit einem kleinporigen Gel wie z.B. Sephadex-G 25 sicherlich nachweisen können.

Die Peritonealhöhle ist der Ort, an dem Infektion und Entzündung mit allen Folgeerscheinungen stattfinden. Demgemäß findet sich im Peritonealexsudat - betrachtet man die Gammaglobuline insgesamt - eine im Gegensatz zum Plasma nicht infizierter, aber auch infizierter Tiere stärker ausgeprägte Abspaltungstendenz.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

An einem an der Ratte entwickelten Peritonitismodell sollte die Wirkung verschieden modifizierter ungespaltener 7S- und enzymatisch gespaltener Gammaglobulinpräparate untersucht werden. Insbesondere interessierten uns Letalitätsraten ohne Therapie und nach Applikation von 150 mg Gammaglobulin pro 300 g Körpergewicht und pro Tag, der Einfluß von Immunglobulinen auf ein parallel zur Peritonitis sich entwickelndes Lungenödem, eine mögliche Aufspaltung der Gammaglobuline innerhalb des Organismus sowie ihre Organverteilungsmuster.

1. Unter den gewählten Bedingungen haben Immunglobuline eine positive Wirkung bei bakteriellen Infektionen. Nicht alle untersuchten Immunglobulinpräparate haben jedoch die Sterblichkeit gleichermaßen positiv beeinflußt. Von den sechs untersuchten Gammaglobulinen zeigten drei, nämlich das 7S-pH4-, das 7S-Standard- und das Pepsin-behandelte Präparat weder gegenüber der Kontrollgruppe ohne Therapie noch gegenüber derjenigen nach Humanalbuminapplikation eine deutliche Wirkung im Hinblick auf eine Verbesserung der Überlebenschance der Tiere. Das 7S-ß-Propiolacton und das 7S-PEG-Gammaglobulin vermochten die Letalität gegenüber der Gruppe nach Albuminbehandlung signifikant zu senken. Jedoch nur das Plasmin-gespaltene Präparat zeigte gegenüber beiden Kontrollgruppen eine signifikant verminderte Letalität.

2. Die Gestorbenen und Überlebenden der infizierten Gruppe ohne Therapie weisen ein gegenüber der Norm deutlich erhöhtes Lungenfeuchtgewicht auf. Das Lungengewicht der Überlebenden einer jeden Therapiegruppe geht im Gegensatz zu den Überlebenden der Gruppe ohne Therapie signifikant bis fast auf die Norm zurück. Das sich entwickelnde Lungenödem scheint bei den Überlebenden durch eine Gammaglobulintherapie positiv beeinflußt werden zu können.

3. Zwei ungespaltene 7S-Gammaglobuline, die dem nativen Molekül gleichen, bzw. relativ ähnlich sind, nämlich das 7S-Standard-Präparat bei gesunden Tieren und das 7S-PEG-Gammaglobulin bei Tieren mit einer Peritonitis, zeigten in einigen Organen eine signifikant bessere Verteilung als das Pepsin- und vor allem das Plasmin-gespaltene Präparat. Alle untersuchten Gammaglobuline reicherten sich am Ort der Infektion, im Colon,signifikant an. Geht man von einer gegenüber beiden Kontrollgruppen deutlichen Letalitätssenkung durch das Plasmin-Gammaglobulin aus, so scheint eine schlechte Verteilung nicht unbedingt mit einer geringen Wirksamkeit zu korrelieren.

4. Vier der untersuchten Gammaglobuline, das 7S-Standard-, das 7S-PEG- und die beiden enzymatisch behandelten Präparate weisen im Peritonealexsudat eine Verschiebung des großmolekularen Anteils in etwas kleinermolekulare Bereiche auf. Diese Aufspaltung scheint im Plasma gesunder und infizierter Tiere - wenn überhaupt - deutlich geringer auszufallen.

Die Diskussion um den Stellenwert von ungespaltenen Gammaglobulinen chemischer Modifikation und Stabilisierung und gespaltenen Gammaglobulinen wie dem Pepsin-behandelten Präparat im Hinblick auf die Aktivierung des Komplementsystems auf klassischem und alternativem Weg ist noch nicht beendet und wird kontrovers geführt. Weiter scheint noch nicht geklärt zu sein, welche Bedeutung dem "alternate pathway" gegenüber dem klassischen Aktivierungsweg in Bezug auf unerwünschte phlogistische und erwünschte Reaktionen wie Opsonierung, Phagozytose usw. zukommt.

Schon länger wird ein möglicher synergistischer Effekt einer gemeinsamen Antibiotika- und Gammaglobulintherapie im Tierversuch und beim Menschen diskutiert (z.B. 21, 28, 59, 122). Auch nach den vorliegenden tierexperimentellen Ergebnissen scheint allerdings die alleinige intraperitoneale Anwendung von Gammaglobulinen zur Therapie von schwersten Infektionen des Bauchraums nicht ratsam zu sein - trotz einer möglichen, aber letztlich ungeklärten Wirksamkeit des einen oder anderen Gammaglobulinpräparats in dem einen oder anderen Tiermodell, in unserem Fall einer Wirkung des Plasmin-gespaltenen Gammaglobulins und - mit Einschränkung - zweier ungespaltener Präparate bei einer experimentellen Peritonitis der Ratte. Jedoch kann eine flankierende Therapie mit Gammaglobulinen zur Milderung von möglichen auf lymphogener oder hämatogener Streuung von Bakterien und ihrer Toxine beruhenden Folgeerscheinungen wie z.B. ein Lungenödem angezeigt sein. Grundsätzlich ist dabei ein unge-

spaltenes, am Molekül möglichst wenig verändertes Gammaglobulin in adäquater Dosierung eher geeignet als ein enzymatisch gespaltenes Präparat, da ersteres eine etwas bessere Verteilung innerhalb des Organismus aufzuweisen scheint.

Für die Zukunft wird man verstärkte Anstrengungen darauf zu richten haben, Hyperimmunseren mit einem definierten hohen Titer gegen die jeweils interessierenden Keime zu entwickeln, um sicher sein zu können, daß überhaupt eine ausreichende Menge von spezifischen Antikörpern in die Blutzirkulation und damit auch an den Ort der Infektion kommt. Darüberhinaus sollten die Präparate mit IgA und besonders mit IgM, das eine wichtige Rolle in der Frühphase der Abwehr vor allem auch gramnegativer Keime spielt (84), angereichert sein, da in den erhältlichen Präparaten dieses Immunglobulin in der Regel nur in Spuren zu finden ist.

Abschließend soll betont werden, daß man überaus vorsichtig sein muß, aus Tierversuchen gewonnene Ergebnisse vorschnell auf den Humanbereich zu übertragen. Gerade auch deshalb wären weitere kontrollierte klinische Studien über die Wirksamkeit verschieden modifizierter Gammaglobuline bei akuten, aber auch bei chronischen Infektionen wünschenswert und notwendig.

LITERATUR.

1. ABRARD, E., EYGONNET, J.P., ESTENNE, B.

Die Bedeutung polyvalenter intravenöser Immunglobuline bei der Behandlung schwerer Bauchfellinfektionen.
Europäischer Kongreß für Intensivpflege, Paris vom 24. - 26. Januar 1980,
Sonderdruck der Rhône-Poulenc Pharma GmbH/Norderstedt.

2. AX, W., KANZY, E.-J., GORONZI, B., SEILER, F.R.

Beeinflussung von in vitro Phagozytose und in vivo Bakterienelimination durch Immunserum, IgG und den verschiedenen daraus hergestellten IgG-Fragmenten.
Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin 84, (1978) 1325

3. BARANDUN, S.

Die Gammaglobulintherapie.
Chemische, immunologische und klinische Grundlagen.
S. Karger, Basel/New York, (1964) 26 - 35

4. BARANDUN, S.

Which Is the Factual Basis, in Theory and Clinical Practice, for the Use of Intravenous Gammaglobulin in the Treatment of Severe Bacterial Infections?
Vox Sang. 37, (1979) 116 - 128

5. BARANDUN, S., CASTEL, V., MAKULA, M.F., PLAN, R., MORELL, A., SKVARIL, F.

Clinical Tolerance and Catabolism of Plasmin-Treated γ-Globulin for Intravenous Application.
Vox Sang. 28, (1975) 157 - 175

6. BARANDUN, S., KISTLER, P., JEUNET, F., ISLIKER, H.

Intravenous Administration of Human γ-Globulin.
Vox Sang. 7, (1962) 157 - 174

7. BARANDUN, S., MORELL, A., SKVARIL, F.

Immunsubstitution mit Gammaglobulin.
Sandorama 5, (1979) 11 - 13

8. BARANDUN, S., MORELL, A., SKVARIL, F.

Clinical Experiences with Immunoglobulin for Intravenous Use.
Published in "Immunoglobulins: Characteristics and

Uses of Intravenous Preparations", 31 - 35,
edited by ALVING, B.M., FINLAYSON, J.S.
Proceedings of a Workshop, October 30 - 31, 1979.
National Institutes of Health, Bethesda, Maryland.
DHHS Publication No. (FDA)-80-9005

9. BARANDUN, S., MORELL, A., SKVARIL, F.

Clinical Use of Intravenous Gamma-Globulin.
Biblthca haemat., No. 46, (1980) 170 - 174
Karger, Basel

10. BARANDUN. S., SKVARIL, F., MORELL, A.

Prophylaxis and Treatment of Diseases by Means of Immunoglobulin.
Monogr. Allergy 9, (1975) 39 - 60

11. BARANDUN, S., SKVARIL, F., MORELL, A.

Prophylaxe und Therapie mit γ-Globulin. Allgemeine Charakterisierung und klinische Anwendung von γ-Globulin-Präparaten.
Schweiz. med. Wschr. 106, (1976) 533 - 542

12. BAUER, H.W., BERTLING, J., ROMEN, W.

In vivo-Studie zur Wirksamkeit der i.v. Immunglobulin-Therapie.
Fortschr. Med. 97. Jg. 10, (1979) 475 - 478

13. BECK, O.E., KAISER, P.E.

Distribution of Human IgG Subclasses in Commercial Intravenous Immunoglobulin Preparations.
Vox Sang. 41, (1981) 79 - 84

14. BEHRING, E.v.

Zur Behandlung diphteriekranker Menschen mit Diphterieheilserum.
In: Gesammelte Abhandlungen zur aetiologischen Therapie von ansteckenden Krankheiten.
2. Teil, Thieme, Leipzig, (1893) 311

15. BIER, O.G., GÖTZE, D., MOTA, I., DIAS DA SILVA, W.

Experimentelle und klinische Immunologie.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1979

16. BÖRNER, U., HEMPELMANN, G.

Beeinflussung des Immunsystems durch anästhesiologische und chirurgische Maßnahmen.
Beitr. Infusionstherapie klin. Ernähr., 9, (Karger, Basel 1982) 34 - 40

17. BRAUDE, A.I., ZIEGLER, E.J., McCUTCHAN, J.A.

Antiserum treatment of gram-negative bacteremia.
Schweiz. med. Wschr. 108, (1978) 1872 - 1876

18. CAMERON, H.S.

Mouse protection with porcine gammaglobulin against E. rhusiopathiae.
Cornell Vet. 37, (1947) 336

19. COHN, J.E., STRONG, L.E., HUGHES, W.L., MULFORD, D.J., ASHWORTH, J.N., MELIN, M., TAYLOR, A.L.

Preparations and properties of serum and plasma proteins.
J. amer. chem. Soc. 68, (1946) 459

20. DAVIS, C.E., BROWN, K.R., DOUGLAS, H., TATE, W.J., BRAUDE, A.I.

Prevention of Death from Endotoxin with Antisera:
I. The Risk of Fatal Anaphylaxis to Endotoxin.
J. Immunol. Vol. 102, No. 3, (1969) 563 - 572

21. DEICHER, H.

Zur Funktion und Wirkung von Immunglobulinen: Anmerkungen.
Beitr. Infusionstherapie klin. Ernähr., 9, (Karger, Basel 1982) 45 - 47

22. DEINHARDT, F.

Comparative Evaluation of Immunoglobulin Preparation Batch No. 80260 of Armour Pharma GmbH with Immunoglobulin Preparations of 5 other Manufacturers.
Prüfungsbericht vom 20.11.1980 des Max v. Pettenkofer-Instituts für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München.

23. DIETRICH, H.

Erfahrungsbericht bei der Behandlung septischer Erkrankungen mit Gamma-Venin.
Dtsch. med. J. 17, (1966) 709

24. DIXON. F.J., TALMAGE, D.W., MAURER, P.H., DEICHMILLER, M.

The Half-Life of Homologous Gamma Globulin (Antibody) in Several Species.
J. Exp. Med.96, (1952) 313 - 318

25. DOLESCHEL, W., VUKOVICH, TH., MAYR, W.R.

Biochemische Parameter bei intravenös applizierbaren humanen Immunglobulinpräparaten.

Sonderdruck eines Vortrags vom Oktober 1980 in Homburg/Saar (Publikation in Vorbereitung)

26. DUSWALD, K.H., MÜLLER, K., SEIFERT, J., RING, J.

Wirksamkeit von i.v. Gammaglobulin gegen bakterielle Infektionen chirurgischer Patienten.
Ergebnisse einer kontrollierten, randomisierten klinischen Studie.
Münch. med. Wschr. 122, (1980) Nr. 22, 832 - 836

27. ECKERT, P., EICHFUSS, H.P.

Transperitoneale Resorption des Peritoneums bei der akuten und chronischen Peritonitis.
Experimentelle Untersuchungen an der Ratte.
Langenbecks Arch. Chir. 346, (1978) 187 - 192

28. ECKERT, P., SCHNEIDER, M., NABER, M.

Beitrag zur Effektivität der Immunglobuline bei der experimentellen Peritonitis.
Langenbecks Arch. Chir. 351, (1980) 63 - 68

29. EHRLICH, P.

Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung.
Berlin, Hirschwald (1904)

30. EIBL, M., FRIERS, G.

Hemmung der Opsonierung von E. coli durch enzymatisch gespaltene Gammaglobuline.
Wien. klin. Wschr. Jg. 90, 20, (1978) 717 - 721

31. FATEH-MOGHADAM, A., BESINGER, U., GEURSEN, R.G.

Ein klinisches Modell zur Regulation der humoralen Immunantwort.
Beitr. Infusionstherapie klin. Ernähr., 9, (Karger, Basel 1982) 69 - 79

32. FISHER, M.W.

The specific antibody nature of the therapeutic action of gammaglobulin in experimental bacterial infections.
Antibiot. Ann. (1957/58) 572

33. FISHER, M.W., MANNING, M.C.,

Studies on the immunotherapy of bacterial infections.
I. The comparative effectiveness of human gammaglobulin against various bacterial species in mice.
J. Immunol. 81, (1958) 29

34. FLURY, W.

Zur Frage der γ-Globulin-Therapie der Infektionskrankheiten.
Passive Mäuseschutzversuche mit humanem γ-Globulin.
Helvetica Medica Acta 6, (1965) 593 - 602

35. FRANKS, J.J., TAKEDA, V., REEVE, E.B.

Preparations of autologous J-131-albumin for metabolic studies in man.
J. Lab. & Clin. Med. 60, 4, (1962) 619 - 628

36. FROMMHAGEN, L.H., FUDENBERG, H.

The role of aggregated γ-globulins in the anticomplementary activity of human and animal sera.
J. Immunol. 89, (1962) 336 - 343

37. GEURSEN, R.G., KROH, U., KRUMP, W., SCHARFE, B.

Ursachen und Nebenwirkungen bei der Anwendung von intravenös applizierbaren Immunglobulinen.
Beitr. Infusionstherapie klin. Ernähr., 9, (Karger, Basel 1982) 95 - 114

38. GHETIE, V., SULICA, A.

Uptake and breakdown of rabbit immunoglobulin G by guinea pig peritoneal polymorphonuclear leukocytes.
Immunochemistry, Pergamon Press, 7, (1970) 175 - 184

39. GIERHAKE, F.W.

Immunglobuline in der operativen Medizin.
Immun. Infekt. 1, (1981) 162

40. GRONSKI, P., HOFSTAETTER, T., KANZY, E.-J., LÜBEN, G., SEILER, F.R.

Die S-Sulfonierung als reversible chemische Modifikation von Immunglobulinen.
Beitr. Infusionstherapie klin. Ernähr., 9, (Karger, Basel 1982) 115 - 125

41. HANSI, K., KRATZSCH, G., HEIMPEL, H.

Klinische Erfahrungen mit einem neuen intravenös applizierbaren Immunglobulin-Präparat.
Dtsch. med. Wschr. 105, 48, (1980) 1675 - 1680

42. HEIDE, K., SCHWICK, H.G.

Prophylaxe und Therapie mit Immunglobulinen.
Internist 15, (1974) 465 - 470

43. HINMAN, J., TULLIS, J.L., SARAVIS, C.A., PENNELL, R.B.

Intravenous Use of Plasmin Treated Immunoglobulin G. I. Preliminary Report on Tolerance by Immunologically Deficient Patients.
Vox Sang. 13, (1967) 85 - 90

44. HITZIG, W.H.

Therapie mit Immunglobulinen bei Immundefizienz.
In: Immunglobuline in Prophylaxe und Therapie.
Hrsg.: SPIESS, H.,Kempkes, Gladenbach (1977)

45. HUMPHREY, J.H., WHITE, G.

Kurzes Lehrbuch der Immunologie.
Thieme, Stuttgart 1971

46. JANEWAY, C.A., MERLER, E., ROSEN, F.S., SALMON, S., CRAIN, J.D.

Intravenous Gamma Globulin.
Metabolism of Gammaglobulin Fragments in Normal and Agammaglobulinemic Persons.
New Engl. J. Med. 278, 17, (1968) 919 - 923

47. JOHANNSEN, R., ENDERS, B., SEILER, F.R.

Hemolytic and lympholytic properties of $F(ab')_2$ fragments of antibodies: activation of complement via the alternate pathway.
Z. Immun.-Forsch., 153, (1977) 313
9. Tagung der Gesellschaft für Immunologie

48. JOHANNSEN, R., KANZY, E.J., SEILER, F.R.

Involvement of the alternate pathway of complement activation as a function of antibody concentration in hemolytic and lympholytic systems.
Immunobiology 157, (1980) 197
12. Tagung der Gesellschaft für Immunologie

49. KALDEN, J.R.

Therapie und Prophylaxe mit menschlichen Immunglobulinen.
Krankenhausarzt (KHA) Heft 8, (1974) 451 - 455

50. KATZ, R.J., RODRIGUEZ, J., WARD, R.

Posttransfusion hepatitis: effect of modified gamma globulin added to blood in vitro.
New Engl. J. Med. 285, (1971) 925

51. KERN, E., LICK, R.

Peritoneum. In:
Pathophysiologische Grundlagen der Chirurgie.
Hrsg.: LINDENSCHMIDT, TH.-O., 2. Auflage,
Thieme, Stuttgart 1975, 516 - 522

52. KORNHUBER, B.,

Intravenöse γ-Globulintherapie.
Erfahrungen mit einer neuartigen Präparation.
Mschr. Kinderheilk. 119, 9, (1971) 528 - 530

53. KORNHUBER, B.

Antikörpertiter nach intravenöser Gammaglobulin-therapie.
Klin. Wschr. 51, (1973) 135 - 136

54. KUMMER, D., GAEBEL, G.

Immunglobulin-Therapie postoperativer Infektionen bei Risikopatienten.
Die Gelben Hefte XVIII, 2, (1978) 83

55. KUNZ, CH., HOFMANN, H., STARY, A.

Der Gehalt von Antikörpern gegen Viren in einigen Gammaglobulinpräparaten.
Wien. klin. Wschr. 89, (1977) 203

56. LANG, W.

Die intravenöse Gamma-Globulin-Therapie.
Zugleich ein Beitrag zur Objektivierbarkeit der Gamma-Globulin-Wirkung.
Dtsch. med. Wschr. 89, (1964) 2374 - 2378

57. LIEHL, E., ARMERDING, D., BÖCKMANN, J.

Effektorfunktionen und protektive Wirkung von Standardimmunglobulin und Immunglobulin nach modifizierter milder Säurebehandlung.
Infection 8, 5, (1980) 194 - 198

58. LINDQUIST, L., JARSTRAND, C., LUNDBERGH, P.

Granulocytic function after administration of pepsin-treated human gamma globulin.
Infection 6, (1978) 248 - 252

59. LINDQUIST, L., LUNDBERGH, P., MAASING, R.

Pepsin-Treated Human Gamma Globulin in Bacterial Infections.
A Randomized Study in Patients with Septicemia and Pneumonia.
Vox Sang. 40, (1981) 329 - 337

60. LÖFFLER, G., PETRIDES, P.E., WEISS, L., HARPER, H.A.

Physiologische Chemie.
2. Auflage, Springer-Verlag,
Berlin-Heidelberg-New York 1979

61. MANZ, R.

Das Verhalten der Gammaglobuline bei septischen Patienten einer Intensivpflegestation.
Anaesthesist 24, (1975) 322 - 324

62. MARGET, W.

Die Behandlung der eitrigen Meningitis.
Mschr. Kinderheilk. 116, (1968) 38

63. MASUDA, K., MAKULA, M.F., OKUYAMA, K., ISHIYAMA, H., YASUDA, J.

Antibody Spectrum and Anticomplementary Activity of a Plasmin-Treated Human Immunoglobulin Preparation.
Vox Sang. 42, (1982) 8 - 15

64. MASUHO, Y., TOMIBE, K., MATSUZAWA, K., OHTSU, A.

Development of an Intravenous γ-Globulin with Fc Activities.
I. Preparation and Characterization of S-Sulfonated γ-Globulin.
Vox Sang. 32, (1977) 175 - 181

65. MICHEL, J., BERCOVICI, B., SACKS, T.

Comparative Studies on the Antimicrobial Activity of Peritoneal and Ascitic Fluids in Human Beings.
Surgery, Gynecology & Obstetrics 151, (1980) 55 - 57

66. MONDORF, A.W.

Immunglobulin-Therapie von Zosterinfektionen bei Patienten unter Zytostatika-Therapie.
In: SPIESS, H. (Hrsg.), Immunglobuline in Prophylaxe und Therapie.
Deutsches Grünes Kreuz, Marburg (1977) 155

67. MORELL, A., SCHÜRCH, B., RYSER, D., HOFER, F., SKVARIL, F., BARANDUN, S.

In vivo Behaviour of Gamma Globulin Preparations.
Vox Sang. 38, (1980) 272 - 283

68. MORELL, A., SKVARIL, F.

Struktur und biologische Eigenschaften von Immunglobulinen und Gammaglobulin-Präparaten.

II. Eigenschaften von γ-Globulinpräparaten.
Schweiz. med. Wschr. 110, (1980) 80 - 85

69. NAKAMURA, R.M., SPIEGELBERG, H.L., LEE, S., WEIGLE, W.O.

Relationship between Molecular Size and Intra- and Extravascular Distribution of Protein Antigens.
J. Immunol. 100, 2, (1968) 376 - 383

70. NISONOFF, A., WISSLER, F.C., LIPMAN, L.N.

Properties of the Major Component of a Peptic Digest of Rabbit Antibody.
Science 132, (1960) 1770 - 1771

71. OUCHTERLONY, Ö.

Diffusion-in-gel methods for immunological analysis II.
Progr. Allergy 6, (1962) 30

72. PATZWALDT, H.-G., KRIEBEL, E., MARKUSE, I.

Bestimmung der komplementaktivierenden Wirkung von Human-Immunglobulinen zur intravenösen Anwendung. Ein Vorschlag für das Arzneibuch der DDR.
Pharmazie 33, 11, (1978) 727 - 729

73. PORTER, R.R.

The Hydrolysis of Rabbit γ-Globulin and Antibodies with Crystalline Papain.
Biochem. J. 73, (1959) 119 - 126

74. PROBST, M., FABIAN, W.

Die Frühtherapie mit Immunglobulinen nach großen abdominalchirurgischen Eingriffen.
Eine prospektive randomisierte Studie.
Langenbecks Arch. Chir. 351, (1980) 85 - 89

75. RAMM, B., HOFMANN, G.

Biomathematik und medizinische Statistik.
Enke Verlag, Stuttgart 1976

76. RIESEN, W.

Struktur und biologische Eigenschaften von Immunglobulinen und γ-Globulin-Präparaten.
I. Struktur und Funktion von Immunglobulinen.
Schweiz. med. Wschr. 110, (1980) 74 - 79

77. RIESEN, W., BARANDUN, S.

Struktur und Funktion von Antikörpern.
Sonderdruck aus Sandorama 2, (1979) 22 - 24

78. RING, J., DUSWALD, K.H.

Probleme der intravenösen Gammaglobulintherapie.
Klin. Wschr. 58, (1980) 797 - 809

79. RING, J., DUSWALD, K.H., BACHMANN, TH., v. SCHEEL, J., STEPHAN, W., BRENDEL, W.

Elimination and Organ Distribution of Intravenously Administered Allogeneic and Xenogeneic IgG Modifications
(Standard IgG, $F(ab')_2$-Fragments and ß-Propiolactone Treated IgG) in Dogs.
Res. Exp. Med. (Berlin) 173, (1978) 209 - 218

80. RING, J., DUSWALD, K.H., SEIFERT, J., BRENDEL, W.

Immunologische Eigenschaften, Aggregatgehalt und Halbwertszeit verschiedener i.v. Human-Gamma-Globulinpräparate.
Langenbecks Arch., Chir. Suppl. Chir. Forum, (1976) 63

81. RING, J., SEIFERT, J., LOB, G., COULIN, K., BRENDEL, W.

Humanalbuminunverträglichkeit:
Klinische und immunologische Untersuchungen.
Klin. Wschr. 52, (1974) 595 - 598

82. RONNEBURGER, H., ZWISLER, O.

Antibakterielle Wirkung von Immunglobulinen: Schutzversuch.
Die Gelben Hefte XVII, (1977) 17 - 21

83. RÖMER, J., MORGENTHALER, J.-J., SCHERZ, R., SKVARIL, F.

Characterization of Various Immunoglobulin Preparations for Intravenous Application.
I. Protein Composition and Antibody Content.
Vox Sang. 42, (1982) 62 - 73

84. SASS, W., HART, R., MIKULLA, G., SEIFERT, J.

Die Wirksamkeit unterschiedlicher Gammaglobulinklassen bei der Therapie einer experimentellen Peritonitis.
Vortrag anläßlich des Niederrheinisch-Westfälischen Chirurgenkongresses. Veröffentlicht in:
Zbl. Chirurgie, Leipzig 108, 13, (1983) 823

85. SACHS, L.

Statistische Auswertungsmethoden.
Springer Verlag

86. SCHADE, G.

Einsatz von Gamma-Venin bei Bronchopneumonien.
Die Gelben Hefte XV, (1975) 79

87. SCHEIERMANN, N., KUWERT, E.K.

Untersuchung menschlicher Gammaglobulinpräparate.
II. Mitteilung: Reinheitsgrad und Zusammensetzung.
Med. Klin. 74, 21, (1979) 825 - 829

88. SCHERZER, H., WARD, P.A.

Lung Injury Produced by Immune Complexes of
Varying Composition.
J. Immunol. 121, 3, (1978) 947 - 952

89. SCHMIDT, R.F., THEWS, G.

Physiologie des Menschen.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
19. Auflage 1977

90. SCHNEIDER, W., WOLTER, D., McCARTY, L.J.

Alternatives for Plasma Fractionation.
Vox Sang. 31, (1976) 141 - 151

91, SCHNEIDER, W., ZIEGLER, G.B.

Prophylaktischer und therapeutischer Einsatz von
Gammaglobulin.
Diagnostik 9, Beilage "Diagnostik und Intensiv-
therapie", (1976) 31 - 37

92. SCHORLEMMER, H.-U.

Das Komplement-System.
Die Gelben Hefte XXII, 49 - 59 (1982)

93. SCHULTE-WISSERMANN, H., SCHOFER, O., DINKEL, E.

Die Therapie mit Gammaglobulin.
Struktur, Wirkungsweise und Einsatzmöglichkeiten
intravenös applizierbarer Gammaglobulinpräparate.
Immun. Infekt. 10, (1982) 98 - 109

94. SCHULTZE, H.E., SCHWICK, G.

Über neue Möglichkeiten intravenöser Gammaglobulin-
Applikation.
Dtsch. med. Wschr. 87, (1962) 1643 - 1650

95. SCHWANDER, D., WEGMANN, A.

Substitutive Therapie durch intravenöse Infusionen
von Standard-γ-Globulinen bei septischen Zuständen.
Schweiz. med. Wschr. 103, (1973) 1184 - 1188

96. SEDLACEK, H.H., SEILER, F.R.

Zur Frage der Pathogenität von Immunkomplexen und der intravenösen klinischen Anwendung von IgG und enzymatisch behandelten IgG-Präparationen.
Beitr. Infusionstherapie klin. Ernähr., 9, (Karger, Basel 1982) 80 - 94

97. SEIDEL, W., RICHTER, H.

Ileus und Peritonitis.
In: Pathophysiologische Grundlagen der Chirurgie.
Hrsg.: LINDENSCHMIDT, TH.-O., 2. Auflage,
Thieme, Stuttgart 1975, 523 - 546

98. SEIFERT, J.

Gammaglobulinpräparate - Unterschiede, Indikationen und Nebenwirkungen.
Med. Mo. Pharm. 3, 11, (1980) 329 - 334

99. SEIFERT, J., DUSWALD, K.H., RING, J.

Therapie mit Gammaglobulinen.
Wann, womit, wieviel, mit welchem Erfolg und mit welchem Risiko?
Fortschr. Med. 98, 14 (1980) 533 - 538

100. SEIFERT, J., DUSWALD, K.H., BACHMANN, P., RING, J., STEPHAN, W., BRENDEL, W.

Organverteilung und Elimination von Gammaglobulinen verschiedener Herstellung beim Hund.
In: SPIESS, H. (Hrsg.): Immunglobuline in Prophylaxe und Therapie, Deutsches Grünes Kreuz, Marburg, (1977) 35 - 39

101. SEIFERT, J., RING, J.

Unverträglichkeitsreaktionen nach Fremdserumtherapie und ihre Vermeidung.
Dtsch. med. Wschr. 100, (1975) 1078 - 1087

102. SEILER, F.R.

Struktur und Funktion von Immunglobulinen.
Beitr. Infusionstherapie klin. Ernähr., 9, (Karger, Basel 1982) 1 - 15

103. SEILER, F.R.

Antikörper: Struktur, Funktion und medizinische Bedeutung.
Die Gelben Hefte XXII, (1982) 1 - 13

104. SGOURIS, J.T.

The Preparation of Plasmin Treated Immune Serum Globulin for Intravenous Use.
Vox Sang. 13, (1967) 71 - 84

105. SKVARIL, F., GOZZE, I.

Anticomplementary Properties of Plasmin-Treated Human G Immunoglobulin and Its Components.
Int. Archs Allergy appl. Immun. 57, (1978) 375 - 378

106. SKVARIL, F., THEILKÄS, L., PROBST, M., MORELL, A., BARANDUN, S.

IgG Subclass Composition and Immunochemical Characteristics of Plasmin-Treated Human γ-Globulin.
Vox Sang. 30, (1976) 334 - 348

107. SONNEBORN, H.-H., STEPHAN, W.

Untersuchungen zur Verträglichkeit von ß-Propiolacton-behandeltem und UV-bestrahltem Rattenserum.
Infusionstherapie 7, 3, (1980) 145 - 147

108. SPIEGELBERG, H.L., WEIGLE, W.O.

The Catabolism of Homologous and Heterologous 7S Gamma Globulin Fragments.
J. Exp. Med. 121, (1965) 323 - 338

109. SPIEGELBERG, H.L., WEIGLE, W.O.

Studies on the Catabolism of γG Subunits and Chains.
J. Immunol. 95, (1966) 1034 - 1040

110. STAUB, N.C.

Pulmonary Edema.
Physiol. Rev. 54, (1974) 678 - 811

111. STEPHAN, W.,

Beseitigung der Komplementfixierung von γ-Globulin durch chemische Modifizierung mit ß-Propiolacton.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem., 7, (1969) 282 - 286

112. Stephan, W.

Intravenöse Immunglobuline.
Proteinchemische und immunbiologische Charakterisierung der verschiedenen Präparatetypen.
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 30 (I) , 1,
(1980) 116 - 117

113. STEPHAN, W., FASOLD, H.

Intravenöses Human-Immunglobulin durch chemische Modifizierung mit ß-Propiolacton. Radiochemische Untersuchungen. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 30 (II), 12, (1980) 2090 - 2093

114. STOKES, J.

Usefulnes of immune serum globulin in viral hepatitis. New Engl. J. Med. 285, (1951) 967

115. TATA, P.S., WERNER, E.

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage des passiven Schutzes durch intravenöse Immunglobulinpräparate. I. Studie bei Mäusen mit subletaler Staphylokokkeninfektion. Res. exp. Med. 164, (1974) 175 - 184

116. TATA, P.S., WERNER, E.

Über die passive Schutzwirkung von peptisch abgebauten und chemisch stabilisierten Immunglobulinen bei septisch verlaufenden Infektionen. Mschr. Kinderheilk. 122, (1974) 502 - 503

117. TRAUTMANN, M., BRÜCKNER, O., HOFSTAETTER, T., SEILER, F.R., HAHN, H.

Schutzwirkung verschiedener Antikörperpräparationen bei einer experimentellen bakteriellen Sepsis. Beitr. Infusionstherapie klin. Ernähr., 9, (Karger, Basel 1982) 155 - 165

118. TUNN, U., BRANDSTÄTER, P.

Einsatz von Gamma-Venin bei obstruktiver Pyelonephritis. Die Gelben Hefte XV , (1975) 122

119. TYMPNER, K.-D., KLOSE, P.K., JANKA, G., LIEGEL, D.

Einfluß intravenös verträglicher Immunglobuline auf die Phagozytose-Leistung der Granulozyten in vitro. Münch. med. Wschr. 120, 8, (1976) 251 - 252

120. URBACH, G.

Tierexperimentelle Untersuchung einer oralen Vaccination gegen Pseudomonas aeruginosa. Dissertation an der Ludwig Maximilians-Universität zu München 1980, aus dem Institut für CHIRURGISCHE FORSCHUNG im Klinikum Großhadern.

121. VOLLERTHUN, R., SEDLACEK, H.H., RONNEBERGER, H.

Gewebeverteilung von nativem und enzymbehandeltem Human-Immunglobulin.
Dtsch. med. Wschr. 102, (1977) 684 - 686

122. WAISBREN, B.A.

The Treatment of Bacterial Infections with the Combination of Antibiotics and Gamma Globulin.
Antibiotics and Chemotherapy 7, 6, (1957) 322 - 333

123. WIESMANN, E.

Medizinische Mikrobiologie.
3. Auflage, Thieme, Stuttgart 1974

124. WIRSING, C.H., FINGER, H., JANSEN, P., TROBISCH, H.

Gehalt an spezifischen Antikörpern in handelsüblichen intravenös applizierbaren Gammaglobulinpräparaten.
Blut 36, (1978) 211 - 216

125. ZIMMERMANN, G.

Passive Mäuseschutzversuche mit Human γ-Globulinen verschieden alter Kontrollnummern und verschiedener Herstellung.
Schweiz. med. Wschr. 90, (1960) 801 - 807

Zuallererst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Brendel für die Überlassung eines Arbeitsplatzes an seinem Institut ganz herzlich bedanken.

Frau Jutta Krumbach und besonders auch Fräulein Gisela Mikulla standen mir immer mit Rat und Tat zur Seite. Beide gaben mir das Gefühl freundschaftlicher Zusammenarbeit.
Auch allen anderen Assistentinnen des Instituts sei an dieser Stelle für ihre Hilfe gedankt.

Mein spezieller Dank gilt meinem Doktorvater, Prof. Dr. med. Jürgen Seifert, der mir stets ein Ansprechpartner war und der seinen Doktoranden zu verstehen gibt, daß er sie vor allem auch als Mitarbeiter betrachtet.

Lebenslauf.

Persönliche Daten.

geboren	18.10.54
in	München
Eltern	Prof. Dr. Walter Hart, Arzt für Chirurgie, und Helge Hart, geb. Kleinschnitz
Familienstand	verheiratet, ein Kind

Ausbildungsdaten.

Schule	1960 - 1961 Volksschule in Würzburg
	1961 - 1964 Volksschule in München
	1964 - 1973 Albert-Einstein-Gymnasium in München
Studium der Physik	WS 1973/74 - WS 1974/75 Ludwig Maximilians-Universität zu München Abbruch wegen Einberufung zum Zivildienst
Sprachenstudium Französisch/Spanisch	1976 - 1977 Sprachen- und Dolmetscher- Institut/München Amalienstr. 73
Beginn des Humanmedizin- studiums	SS 1978 Ludwig Maximilians-Universität zu München
Ärztliche Vorprüfung	August 1979
1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung	August 1980
2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung	August 1982
Praktisches Jahr	April 1983 - März 1984
3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung	April 1984